

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie München

VERGLEICHENDE ZYTOGENETISCHE UND ZYTOLOGISCHE
UNTERSUCHUNGEN AN 24 HIRNEIGENEN TUMOREN
DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

BERTOLD SCHWARTZ

aus Brackwede

1973

Aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie München

VERGLEICHENDE ZYTOGENETISCHE UND ZYTOLOGISCHE
UNTERSUCHUNGEN AN 24 HIRNEIGENEN TUMOREN
DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation



zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

BERTOLD SCHWARTZ

aus Brackwede

1973



1. Berichterstatter: Prof.Dr. K.D. Z a n g

2. Berichterstatter: Prof.Dr. O. S t o c h d o r p h

Dekan: Prof.Dr. W. S p a n n

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 12. 73

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung und Problemstellung	1
Material und Methodik	3
Klinische Angaben zu den untersuchten Tumoren	6
Ergebnisse	9
a) Astrozytome	10
b) Glioblastome	16
c) Oligodendrogliome	22
d) Medulloblastome	26
Tabellen der Chromosomenbefunde	28
Diskussion	30
Zusammenfassung	40
Abbildungen 1 - 7	41
Literaturverzeichnis	48
Danksagung	51
Lebenslauf	52



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554607_0078

EINLEITUNG

Die Frage nach dem Zusammenhang zwischen Tumorentstehung und Chromosomenveränderungen wurde schon im vergangenen Jahrhundert gestellt. 1890 beschrieb VON HANSEMANN gestörte Mitosefiguren als typischen Befund in Tumorgeweben. BOVERI vertrat 1914 in seiner Krebstheorie zum erstenmal die Ansicht, daß Chromosomenverteilungsstörungen die Ursache für eine Tumorentwicklung seien.

1930 berichtete WINGE aufgrund seiner Untersuchung am Teercarcinom der Maus, daß sich bei der tumoralen Zellentartung vorwiegend eine Polyploidisierung der Zellen entwickelt, aus der durch weitere Entdifferenzierung unterschiedliche Zelllinien entstehen können. Er behauptete weiter, daß innerhalb der chromosomal abweichenden Zellen "eine natürliche Auslese der im Wachstum Lebhaftesten stattfindet, weshalb eine zunehmende Wachstumsintensität eintreten kann". WINGE schuf hiermit bereits den Begriff der Selektionierung bestimmter Zelltypen. MAKINO (1951) prägte aufgrund seiner Erfahrungen mit dem Yoshida-Sarkom den Begriff der "Stammlinie". Er definierte, daß diese für die Entwicklung eines Tumors verantwortliche Zelllinie durch einen spezifischen Chromosomensatz charakterisiert sei. Diese Erkenntnisse beruhten weitgehend auf der Arbeit mit experimentellen tierischen Tumoren.

Der menschliche Chromosomensatz, und damit die Chromosomenpathologie menschlicher Tumoren wurde erst durch wesentliche methodische Fortschritte der genaueren Untersuchung zugänglich gemacht. Hierzu gehörte einmal die Möglichkeit, mittels Hypotonie-Behandlung eine stärkere Ausbreitung der Chromosomen zu erzielen (MAKINO 1952, HSU 1952). Zum anderen konnte durch Colchicinderivate eine Blockierung der Zellteilung in der Metaphase und damit eine Anreicherung von Mitosen erreicht werden (TJIO und LEVAN 1956). Diese methodischen Verbesserungen erlaubten die endgültige Feststellung der menschlichen Chromosomenzahl auf 46 (TJIO und LEVAN 1956, FORD und HAMERTON 1956).

Es konnten nun die Chromosomen an Hand ihrer Parameter, wie durchschnittliche Größe, Lage des Zentromers und Häufigkeit von sekundären Konstriktionen geordnet werden, wie es mit der "Denver-Nomenklatur" erfolgt ist (1960). Diese Einteilung wurde 1966 in Chicago nochmals überprüft und verbessert.

Die nun folgende intensive Beschäftigung mit den Chromosomensätzen menschlicher Tumore führte zu einer Fülle von Publikationen. Den entscheidenden Impuls auf diesem Forschungsgebiet gab die Entdeckung einer einheitlichen Chromosomenaberration bei der chronisch myeloischen Leukämie durch HUNGERFORD und NOWELL in Philadelphia (1960). Sie fanden in den pathologischen Zellen konstant ein deletiertes Chromosom der G-Gruppe, das sog. "Philadelphia-Chromosom". In den folgenden Jahren sind zahlreiche Chromosomenuntersuchungen an anderen Tumoren durchgeführt worden. Die dabei anzutreffenden Chromosomensätze waren zwar vielfach innerhalb einer bestimmten Geschwulst einheitlich, jedoch konnte für Geschwülste mit gleicher histologischer Struktur niemals eine spezifische Chromosomenveränderung gefunden werden, wie es bei der myeloischen Leukämie der Fall war. Erst in den letzten Jahren konnte nun beim menschlichen Meningeom wahrscheinlich ein zweiter Tumor mit einer definierten Chromosomenaberration gefunden werden (ZANG und SINGER 1967, SINGER und ZANG 1970). Hier fand sich als konstante Veränderung der Verlust eines ganzen Chromosoms der G-Gruppe.

Während maligne Tumoren und Metastasenexsudate, wie Ascitesflüssigkeit, in großer Anzahl untersucht worden sind, fehlen Chromosomenbefunde von differenzierten Tumoren fast völlig. Ebenso sind bei den Hirngeschwülsten vorwiegend die Chromosomensätze maligner Tumoren untersucht worden, während Chromosomenbefunde von differenzierten intrakraniellen Geschwülsten nur vereinzelt vorliegen. Ein Grund hierfür mag sein, daß die relativ gutartigen Geschwülste wegen ihrer geringen Mitosehäufigkeit für die übliche Direktpräparation ungeeignet sind und nur durch eine Züchtung eine genügend große Mitosenanzahl für eine Chromosomenuntersuchung zu erhalten ist. Die daraufhin durchgeführten Versuche zeigten aber, daß eine Züchtung von Hirntumoren in vitro mit nachfolgender Chromosomen-

präparation mit erheblichen methodischen Schwierigkeiten verbunden ist (u.a. CONEN 1967, MARK 1971).

Im Rahmen dieser Arbeit soll an Hand der Chromosomenbefunde von 24 intrakraniellen Geschwülsten gezeigt werden, daß es mit Hilfe einer Züchtung gelingt, die Chromosomensätze von Hirngeschwülsten aller Differenzierungsgrade zu untersuchen. Darüberhinaus soll diese Untersuchung zeigen, daß diese Methode den zusätzlichen Vorteil einer vergleichenden zytologischen und zytogenetischen Betrachtungsweise bietet und damit zur Klärung einiger durch die Gewebezüchtung menschlicher Hirngeschwülste entstandenen Probleme beitragen kann.

PROBLEMSTELLUNG

KERSTING konnte an Hand seiner Befunde zeigen, daß entsprechend dem vorherrschenden Zelltyp des Schnittpräparats jede Hirngeschwulst-art mit Ausnahme des multiformen Glioblastoms in der Gewebekultur einen charakteristischen Verband ausbildet. Es war daher folgerichtig zu untersuchen, ob dieser für jede Geschwulstart typische in vitro-Zellverband auch durch einen bestimmten Karyotyp repräsentiert ist.

Ebenso wichtig war das Argument, ob durch eine vergleichende histologische und chromosomenmorphologische Untersuchung die für den Kliniker wichtige Frage nach dem Malignitätsgrad der Hirngeschwülste exakter als aus der Morphologie allein beantwortet werden kann.

MATERIAL UND METHODIK

Zur Untersuchung kam ausschließlich Biopsiematerial, das spätestens 2 Stunden nach Entnahme unter konstanter Einhaltung der folgenden Bedingungen angezüchtet wurde. Ein Teil der Biopsie wurde zur histologischen Untersuchung verwendet, das übrige Material diente zur Züchtung von Explantatkulturen in Rollerröhrchen nach einer von KERSTING modifizierten Methode von GEY (1936). Bei der von KERSTING angegebenen Methode wird das Geschwulstgewebe zu einer Partikelgröße von ungefähr 1 mm Kantenlänge zerkleinert. Die Geschwulstpartikel wurden auf Deckglasstreifen mit einem Clot aus Hahnenplasma und Hühnerembryonalextrakt angeheftet. Die Deckglasstreifen waren

vorher in Reagenzröhrchen mit einem nicht-toxischen Klebstoff (Movital) befestigt worden.

Als Nährmedium diente in geringer Modifikation der Methode nach KERSTING ein Gemisch aus 50% Nährmedium 199 (Difco), 40% Rinder-Amnionflüssigkeit (eigene Präparation), 10% Kälberserum (Difco) und 0,5 g/l Hefeextrakt (Yeastolate, Difco). Die Gewinnung von Hahnenplasma, Embryonalextrakt und Amnionflüssigkeit erfolgte in bekannter Weise (KERSTING 1961). Als Indikator wurden 2 ml einer 0,5%igen Phenolrotlösung pro Liter Medium zugesetzt. Der Antibiotikazusatz bestand aus 200.000 E Penicillin und 150 mg Streptomycin pro Liter Medium. Das fertige Medium wurde mit 10%iger Natriumbikarbonatlösung auf ein pH von 7,2 bis 7,4 eingestellt, steril filtriert und nach einer Sterilprobe verwendet.

Je nach Menge an vorhandenem Untersuchungsmaterial wurden pro Tumor 12 bis 36 Deckglasstreifen mit durchschnittlich 5 Partikeln bepflanzt. Die Kulturröhrchen wurden nach Koagulation des Hahnenplasmas mit 2 ml Medium beschickt und bei 37 Grad und 20 Umdrehungen pro Stunde bebrütet. In regelmäßigen Abständen wurde das Wachstum und die Indikatorfarbe kontrolliert und durchschnittlich jeden 3. Tag das Medium erneuert. Ein Teil der Kulturen diente zur Beurteilung der in vitro-Morphologie der Geschwulst. Am 3., 7. und 10. Wachstumstag wurden von jedem Tumor 2 Kulturen fixiert und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die übrigen Kulturen wurden zur Chromosomenanalyse verwendet. Um eine ausreichende Anzahl von Mitosen zu erhalten, ist eine genügend große Proliferationszone um die Explantate notwendig. Dies ist in der Regel zwischen dem 5. und 8. Tag der Fall. Die Proliferationsdauer bis zum Zeitpunkt der Chromosomenpräparation, sowie die Anzahl der hierfür verwendeten Kulturen sind bei den einzelnen Tumoren angegeben.

Um eine zusätzliche Anreicherung von Mitosen zu erhalten, wurde versucht, die Zellen vor der Chromosomenpräparation stärker zu synchronisieren: Kulturen, deren Medium eine Gelbfärbung des Indikators und damit eine pH-Verschiebung zum Säuren hin anzeigten, sind in der Proliferationsgeschwindigkeit vermindert; die Zellen

reichern sich in der G1-Phase an. Ein Mediumwechsel und die damit verbundene pH-Korrektur führt zu einer Teilungsanregung. Es wurde deshalb 22 Stunden vor der Chromosomenpräparation nochmals das Medium gewechselt und 6 Stunden vor der Präparation dem Medium 0,4 µg/ml Colcemid (Ciba) zugesetzt. Zur Chromosomenanalyse wurden die Deckglasstreifen den Röhrchen entnommen und in einer Petrischale mit auf 37 Grad vorgewärmter 0,7%iger Natriumcitratlösung für 35 Minuten einer Hypotonie-Behandlung unterzogen. Die Fixierung erfolgte in einem Gemisch von Eisessig-Methanol (1 : 3) für 15 Minuten. Anschließend wurden die Präparate für einige Stunden in 70%ige Essigsäure getaucht und im Luftstrom eines Föns bei ca. 50 Grad getrocknet. Die Färbung der Präparate erfolgte mit synthetischem Orcein in 0,5%iger Lösung. Die Präparate wurden mikroskopisch im Phasenkontrast durchgemustert. Alle bewerteten Metaphasefiguren, auch diejenigen bei denen nur eine Chromosomenzählung möglich war, wurden photographiert. Die Karyotypierung erfolgte auf dem Papierbild bei 2600-facher Vergrößerung unter Zugrundelegung der Chicago-Nomenklatur (1966).

KLINISCHE ANGABEN ZU DEN UNTERSUCHTEN TUMOREN

(Chronologische Reihenfolge)

T 568 Oligodendrogliom (-Rezidiv)

54-jährige Frau. Seit 5 Monaten zunehmende Parese der rechten Hand. Operation eines links-parasagittalen Tumors. Rezidiv eines vor 5 Jahren an der gleichen Stelle operierten Spongioblastoms (?) (histologische Diagnose: Professor BURKHARDT).

T 595 Oligodendrogliom (-Rezidiv)

60-jährige Frau. 3-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation eines frontalen, hühnereigroßen Tumors mit zentraler Zyste. Rezidiv eines vor 12 Jahren operierten und nachbestrahlten entdifferenzierten Astrozytoms (histologische Diagnose: Professor BURKHARDT).

T 665 Multiformes Glioblastom

55-jähriger Mann. 1-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation eines rechts-occipitalen, mandarinengroßen Tumors.

T 667 Medulloblastom

7-jähriger Junge. 5-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation eines paramedian bis zum 4. Ventrikel reichenden Kleinhirntumors.

T 672 Fusiformes Glioblastom

39-jähriger Mann. 3-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation eines links-temporalen, gänseeigroßen Tumors (1 Jahr später Rezidiv).

T 726 Protoplasmatisches Astrozytom

17-jähriger Junge. Seit 6 Monaten zunehmende Kopfschmerzen. Operation eines im rechten Kleinhirn-Brückenwinkel freiliegenden hühnereigroßen Tumors.

T 727 Fusiformes Glioblastom

68-jähriger Mann. Seit 4 Monaten Kopfschmerzen. Operation eines rechts-frontalen, apfelgroßen Tumors, der teils nekrotisch, teils klein zystisch durchsetzt war.

- T 730 Kleinnirnstrozytom
2-jähriger Junge. Seit 3 Monaten zunehmende Ataxie. Operation eines feigengroßen, paramedianen Tumors im Kleinhirn.
- T 733 Entdifferenziertes protoplasmatisches Astrozytom
37-jähriger Mann. Seit 2 Jahren angeblich zunehmende psychische Veränderungen. Operation eines präzentralen, prasagittalen, apfelgroßen Tumors.
- T 734 Oligodendrogliom (-Rezidiv)
28-jährige Frau. 5-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation eines präzentralen parasagittalen, hühnereigroßen Tumors. Zweites Rezidiv eines vor 4 Jahren und vor 1 Jahr operierten entdifferenzierten Astrozytoms (histologische Diagnose: Professor BURKHARDT).
- T 751 Entdifferenziertes Oligodendrogliom
42-jähriger Mann. Seit 6 Monaten Kopfschmerzen. Operation eines rechts-frontalen, faustgroßen Tumors.
- T 753 Entdifferenziertes fusiformes Astrozytom (-Rezidiv)
44-jährige Frau. Seit einem Monat Kopfschmerzen. Die gesamte vordere Schädelgrube von Tumormassen ausgefüllt. Rezidiv eines vor 20 Monaten operierten links-frontalen entdifferenzierten Astrozytoms (histologischer Befund: Professor BURKHARDT, München).
- T 754 Multiformes Glioblastom
55-jährige Frau. Seit 1 Monat Übelkeit und Kopfschmerzen. Operation eines links-temporalen, stark nekrotischen Tumors.
- T 758 Multiformes Glioblastom
43-jähriger Mann. Seit 3 Wochen Kopfschmerzen. Operation eines rechts-frontalen, faustgroßen, gefäßreichen Tumors.
- T 760 Oligodendrogliom
54-jährige Frau. Seit 4 Monaten zunehmende Hemiparese rechts. Operation eines rechts-temporalen, faustgroßen Tumors.
- T 763 Multiformes Glioblastom
59-jährige Frau. 2-monatige Anfallsanamnese. Operation

- eines rechts-parietalen, tomatengroßen Tumors.
- T 764 Entdifferenziertes protoplasmatisches Astrozytom
40-jährige Frau. Seit 3 Monaten Sensibilitätsausfälle.
Operation eines rechts-parietalen, mandarinengroßen Tumors.
- T 780 Endifferenziertes protoplasmatisches Astrozytom
70-jährige Frau. Seit 6 Monaten Kopfschmerzen. Operation
eines rechts-temporalen, tomatengroßen Tumors.
- T 787 Entdifferenziertes Oligodendrogliom
64-jähriger Mann. Seit 1 Jahr linksseitige Kopfschmerzen.
Operation eines pflaumengroßen Tumors im Gyrus angularis.
- T 805 Medulloblastom
34-jährige Frau. Seit 4 Monaten Erbrechen und Kopfschmerzen.
Operation eines tomatengroßen bis zum 4. Ventrikel reichen-
den Kleinhirntumors.
- T 828 Fibrilläres Astrozytom
Seit 4 Wochen zunehmende Aphasie, Operation eines links-
temporalen, subcorticalen, mandarinengroßen Tumors.
- T 829 Fusiformes Glioblastom
60-jähriger Mann. 4-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation
eines rechts-parieto-occipitalen, gefäßreichen faustgroßen
Tumors.
- T 893 Gliös-sarkomatöser Misch tumor (?)
65-jährige Frau. 1-monatige Kopfschmerzanamnese. Operation
eines links-temporalen, subcorticalen Tumors mit Infiltra-
tion in die Stammganglien.
- T 897 Entdifferenziertes fibrilläres Astrozytom
43-jährige Frau. 1-monatige Anfallsanamnese. Operation
eines links-fronto-temporalen, subcorticalen, hühnerei-
großen Tumors.

ERGEBNISSE

Vorbemerkungen: Die untersuchten Biopsien wurden in der Zeit vom 13.12.1967 bis 2.5.1969 im Gewebezüchtungslabor der neuropathologischen Abteilung des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie gezüchtet. Die Kulturen wurden zytologisch und zytogenetisch untersucht. Im Folgenden wird jeder Tumor im Hinblick auf seine Histologie, sein Verhalten in der Gewebekultur und sein chromosomales Spektrum beschrieben.

Die Einteilung der Tumoren erfolgte nach der von ZULCH (1951) modifizierten Klassifikation von BAILEY und CUSHING (1926). Um einen Vergleich mit der ebenfalls häufig benutzten Klassifikation nach KERNOHAN (1949) zu ermöglichen, wurde die Histologie der Tumoren ausführlich charakterisiert. Die histologische Beschreibung und Klassifikation der Tumoren wurde von Priv. Doz. Dr. K.D. Zang vorgenommen.

KERSTING (1961) konnte zeigen, daß unter seinen Züchtungsbedingungen die einzelnen Hirngeschwulstarten nicht der von COSTERO und POMERAT (1955) postulierten "Nomicoplasie" in vitro kultivierter Zellen, d.h. einer gesetzmäßigen Entdifferenzierung folgen, sondern in der Gewebekultur einen charakteristischen Strukturverband und sehr viel reinere histologische Strukturen als im Schnittbild bilden. In der vorliegenden Untersuchungsreihe ließ sich ebenfalls für jede Geschwulstart eine charakteristische Kulturform feststellen, die mit der von KERSTING beschriebenen weitgehend übereinstimmte. - Bei der Beschreibung des Verhaltens der Tumoren in der Gewebekultur wurde der Anteil und die Proliferationsanordnung der Fibroblasten besonders berücksichtigt.

Im Chromosomenbefund sind die Metaphasen entsprechend ihrer Chromosomenzahl zusammengefaßt. Es ist bekannt, daß aufgrund von Präparationsartefakten bei diploiden Metaphasen durchschnittlich 10-20% der Metaphasen einen hypodiploiden Chromosomensatz zeigen. Solche Chromosomensätze sind in der Chromosomenbefundbeschreibung mit "-.-.-" gekennzeichnet. Diejenigen Metaphasen, die aufgrund ihrer mangelhaften Qualität nicht karyotypiert, sondern nur im

Hinblick auf ihre Chromosomenzahl analysiert werden konnten, sind mit "(gezählt)" gekennzeichnet.

Auf die Herkunft der zahlreichen Zellen mit normalem oder fast normalem Karyotyp wird in der Diskussion noch näher eingegangen. Im folgenden Abschnitt soll bei den einzelnen Tumoren nur aufgezeigt werden, daß eine vergleichende Betrachtungsweise der Gewebekulturmorphologie und des Chromosomenbefundes die Herkunft der unterschiedlichen Chromosomensätze klären kann (z.B. Differenzierung zwischen Tumormitosen mit normalem Chromosomensatz und Fibroblastenmetaphasen).

T 730

- Histologie: Kleinhirnaströzytom: Stark regressiv veränderter zellarmer Tumor. In den erhaltenen Arealen Anordnung der Zellen in Strudeln und Zügen. Die hellen länglich ovalen Kerne liegen in einer stark faserigen Interzellulärsubstanz. In den regressiv veränderten Partien pyknotische Kerne.
- Gewebekultur: Lebhaftes Proliferation typischer fibrillärer Astrozyten mit langen dünnen Fortsätzen, die sich stark vernetzen. Kerne sehr isomorph. Vereinzelt protoplasmatische Astrozyten, zum Teil mehrkernig. Ganz vereinzelt Fibroblastenkolonien.
- Chromosomen: 7 Kulturen; 7. Wachstumstag
16 46,XY;
6 -.-.-
Die wenigen Metaphasen lagen in einzelnen Kolonien zusammen. Bei einigen Metaphasen fand sich eine strukturelle Veränderung der E-Gruppe: t(18q-,16q+). Eine Metaphase zeigte mehrere Chromosomenbrüche.

T 828

- Histologie: Fibrilläres Astrozytom: Zellarmer faserreicher Tumor mit fließendem Übergang in normales Hirn-

gewebe. In einem Areal zunehmende Dichte von Zellen mit kleinen isomorphen Kernen. Arealweise kleinzystische Degeneration und regressive Veränderungen an den Gefäßen.

Gewebekultur: Zelldichte Proliferation schlanker, bipolarer, radiär angeordneter Zellen. In wenigen Arealen etwas stärkere Kernpolymorphie. Ganz vereinzelt Fibroblasten.

Chromosomen: 11 Kulturen; 7. Wachstumstag

30 46,XX;

3 47,XX,A+;

9 -.-.; Präparationsartefakt.

Keine Chromosomen-strukturellen Veränderungen bei den karyotypierten Metaphasen. Da in der Gewebekultur nur eine minimale Proliferation von Fibroblasten festzustellen war und die Metaphasen auf alle Explantate verteilt waren, kann angenommen werden, daß die analysierten Chromosomensätze Tumormetaphasen entsprechen.

T 726

Histologie: Protoplasmatisches Astrozytom: Mäßig zellreicher Tumor mit isomorphen, chromatinreichen Kernen. Häufig "gemästete" Astrozyten mit unterschiedlicher Ausdehnung des Zytoplasmas. Gelegentlich stärkere Anaplasie und Nekrosen.

Gewebekultur: Sehr spärliche Zellproliferation von plumpen eosinophilen Riesenastrozyten mit randständigem Kern und zahlreichen Fortsätzen. Sonst überwiegend Fibroblastenproliferation.

Chromosomen: 5 Kulturen; 7. Wachstumstag

30 46,XY;

1 47,XY,C+;

10 -.-.;

Es fanden sich vorwiegend normale Chromosomensätze, vermutlich aufgrund der intensiven Fibroblastenproliferation in der Gewebekultur.

T 733

- Histologie: Entdifferenziertes protoplasmatisches Astrozytom:
Uneinheitliche Morphologie des Schnittbildes. In einigen Arealen plumpe, stark eosinophile Astrozyten, in anderen Gebieten mit stärkerer Zelldichte kleine polymorphkernige Astrozyten. Erhebliche Gefäßwucherung.
- Gewebekultur: Überwiegendes Auswachsen von Fibroblasten, z.T. in Mischkultur mit protoplasmatischen Astrozyten von mäßiger Kernpolymorphie.
- Chromosomen: 6 Kulturen; 7. Wachstumstag
24 46,XY;
5 -.-.-;
Es fanden sich nur normale Chromosomensätze, vermutlich aufgrund einer überwiegenden Fibroblastenproliferation in der Gewebekultur.

T 780

- Histologie: Entdifferenziertes protoplasmatisches Astrozytom:
Über weite Bereiche große eosinophile Astrozyten mit randständigem chromatinreichen Kern (sog. "gemästete" Astrozyten). Arealweise Kernruhe und Kernfragmentierungen durch Pyknose. Gefäße nicht wesentlich verändert.
- Gewebekultur: Unterschiedliche, deutlich getrennte Zellpopulationen. Arealweise entweder reine Fibroblastenkulturen oder Kolonien von polymorphkernigen Zellen und vielkernigen Riesenzellen mit plumpen Fortsätzen.
- Chromosomen: 8 Kulturen; 8. Wachstumstag

- 21 46,XX;
- 3 47,XX,C+;
- 6 45,C-;
- 8 -.-.-;
- 4 80-97 (gezählt)
- 5 130-156 (gezählt)

Einige der diploiden Metaphasen zeigten strukturelle Veränderungen wie Brüche oder Ringchromosomen. In den polymorphkernigen Proliferationszonen fanden sich vereinzelt Metaphasen mit polyploider Chromosomenzahl. Unter den gegebenen Präparationsbedingungen waren sie nicht zu karyotypieren und auch keine sicheren Markerchromosomen festzustellen.

T 764

- Histologie:** Endifferenziertes protoplasmatisches Astrozytom:
Zelldichtes Schnittbild mit kleinen chromatindichten, relativ isomorphen Kernen. Gelegentlich kleinere umschriebene Nekrosen. In einigen Arealen vereinzelte Riesenzellen. Geringe Vaskularisation.
- Gewebekultur:** Lebhaftes Auswachsen isomorpher, überwiegend bipolarer Zellen, die jedoch gelegentlich zusätzliche Ausläufer zeigten. Vereinzelt plumpe, z.T. mehrkernige Zellen mit zahlreichen Fortsätzen, die protoplasmatischen Astrozyten entsprachen. Nur vereinzelt Fibroblastenwachstum.
- Chromosomen:** 8 Kulturen; 6. Wachstumstag
- 17 46,XX;
 - 2 -.-.-
 - 6 39
 - 5 78; 1 double minute in einigen Mitosen
 - 5 75-77; gelegentlich 1 double minute
 - 4 74; gelegentlich 1 double minute.
- Bei den diploiden Metaphasen fand sich mit Ausnahme

eines Ringchromosoms in einer Mitose, keine strukturelle Veränderung.

Die hypo-, bzw. hyperdiploiden Metaphasen waren gut gespreitet. Aufgrund ungleichmäßiger Spiralisierung war eine Gruppeneinteilung der Chromosomen nur beschränkt möglich (siehe Abb.1). Aus dem gleichen Grund war der Armindex der Chromosomen nicht zu bestimmen und es ließ sich außer einem double minute in zahlreichen Mitosen kein Markerchromosom feststellen.

Bei den aneuploiden Metaphasen fanden sich eine Stammlinie mit einer Modalzahl von 78 Chromosomen und einer Nebenlinie mit 39 Chromosomen. Es ist anzunehmen, daß die Stammlinie das Endoreduplikationsprodukt der Nebenlinie darstellt.

T 753

- Histologie: Rezidiv eines stark entdifferenzierten fusiformen Astrozytoms: Zellreicher Tumor. Die isomorphen kleinkernigen Zellen waren in einer faserigen Grundsubstanz in Zügen angeordnet. In einigen Arealen stark geschlängelte und hyalinisierte Gefäße. Vereinzelte Nekrosen.
- Dieser Tumor war das Rezidiv eines vor 20 Monaten operierten und nachbestrahlten Tumors.
- Gewebekultur: Sehr lebhaftes Auswachsen stumpfspindeligter Zellen als geschlossene Monolayer. Gegenseitige Durchflechtung und mehrschichtiges Wachstum in einigen Gebieten. Gleichmäßige Kerngröße und Chromatindichte der Zellen. Es besteht nur eine histo-, keine zytostrukturelle Verwilderung. Keine Fibroblasten.
- Chromosomen: 9 Kulturen; 8. Wachstumstag
49 45,A-,B-,2C-,F+,2mar+;
3 90 (gezählt)

Bei allen Metaphasen fanden sich konstant die gleichen beiden Markerchromosomen (Abb.2). Aufgrund von Zentromer-Index und Länge können die 2 Marker Produkt einer Translokation $t(4q-,3q+)$ sein.
Anmerkung: Im Gegensatz zur Histologie des Schnittes zeigte die Gewebekultur eine epitheliale Struktur. Ein mehrschichtiges Wachstum in der Gewebekultur - Zeichen einer fehlenden Kontakthemmung - fand sich bei keinem anderen Tumor dieser Untersuchungsreihe. Die atypische in vitro-Proliferation steht möglicherweise im Zusammenhang mit der vorausgegangenen Bestrahlung. Der Chromosomenbefund entspricht in seiner Einheitlichkeit dem zytologischen Gewebekulturbefund.

T 897

- Histologie:** Entdifferenziertes fibrilläres Astrozytom: Zelldichtes Schnittbild mit in Zügen und Strudeln angeordneten plump spindelligen Zellen. Chromatinreiche Kerne von geringer Polymorphie. Umschriebene Nekrosen. Gefäßwände hyalinisiert und kollagenisiert bei mäßiger Vaskularisation.
- Gewebekultur:** Bereits in den ersten Züchtungstagen intensive Proliferation dünnspindelliger Zellen mit Neigung zur Vernetzung. Massenhaft Makrophagen. Keine Kernpolymorphie. Vereinzelt Fibroblastenwachstum.
- Chromosomen:** 9 Kulturen; 5. Wachstumstag
19 46,XX;
7 -.-.-
1 92, end.
Die Chromosomen zeigten keine strukturelle Veränderung. Die Metaphasen lagen in wenigen kleinen Kolonien zusammen, während der überwiegende Teil der Kulturen keine mitotische Aktivität aufwies. Dieses Verteilungsmuster entsprach der Fibroblastenproliferation in der Gewebekultur, die sich ebenfalls auf

einzelne Areale beschränkte.

T 829

- Histologie: Fusiformes Glioblastom: Überwiegend weiße Hirnsubstanz mit Kapillarvermehrung, Intimaproliferation und großen eosinophilen Astrozyten. Das Tumorgewebe war scharf abgegrenzt. Die isomorphen Zellen waren hier in reichlicher kollagener Grundsubstanz in Zügen und Strudeln angeordnet. Mäßige Kernpolymorphie.
- Gewebekultur: Lebhaftes Proliferation spindelförmiger Zellen mit langen, faserigen, zentrifugalen Fortsätzen. Geringe Kernanisomorphie, jedoch gelegentlich Riesenzellen und pathologische Mitosen.
An einigen Explantaten ausschließliches Auswachsen großer Fibroblastenkolonien.
- Chromosomen: 8 Kulturen; 8. Wachstumstag
- | | |
|----|----------------------------|
| 13 | 46,XY; |
| 10 | 45,G-; (Abb.3) |
| 5 | -. -. |
| 10 | 44-45; (annähernd gezählt) |
| 1 | 44,2E-,C-,2G-,4mar+; |
| 2 | 88 (gezählt) |
- Die gut zu karyotypisierenden Metaphasen mit normalem und G-monosomie (45,G-) Chromosomensatz lagen in den isomorphkernigen Kulturen. In den polymorphkernigen Arealen fanden sich dagegen vereinzelt hypodiploide, bzw. hypotetraploide Metaphasen, die jedoch wegen ihrer schlechten Qualität meist nicht zu karyotypisieren waren. Bei einer karyotypisierten Mitose fanden sich 4 Markerchromosomen. Wie bei T 758 fanden sich in einigen Proliferationsarealen nur diploide und G-monosomie (45,G-) Chromosomensätze, während in anderen Arealen nur die übrigen

hypodiploiden Metaphasen zu finden waren. Der Befund der Gewebekultur erklärt möglicherweise die Verteilung der Chromosomensätze, da ebenfalls eine explantatweise getrennte Proliferation von Fibroblasten und Tumorgewebe festzustellen war.

T 727

Histologie: Fusiformes Glioblastom: Überwiegend nekrotisches Gewebe. In einem Areal spindelige Zellen in Zügen und Strudeln angeordnet. Hier waren außerdem eine ausgeprägte Kernpolymorphie, eine starke Vaskularisation und zahlreiche Mitosen zu finden.

Gewebekultur: Lebhaftes Fibroblastenproliferation und zahlreiche Makrophagen. Vereinzelt in Mischkultur zusätzlich schlankere bipolare Zellen (Astrozyten!).

Chromosomen: 8 Kulturen; 8. Wachstumstag

30 46,XY;

14 45,G-;

9 44-G-,C-;

9 -.-.-

1 90,2G-;

Neben normalen diploiden Metaphasen fanden sich zahlreiche G-monosome (45,G) Metaphasen. Ob die atypischen Astrozyten chromosomal erfaßt wurden, ließ sich nicht sicher feststellen.

T 672

Histologie: Fusiformes Glioblastom: Sehr zellreicher Tumor von ausgeprägter fusiformer Struktur. Anordnung der ovalen Kerne in Zügen, gelegentlich in Wirbeln. Polymorphie und anaplastische Formen nur in einigen Arealen. Ausgedehnte Nekrosen. Geringe Vaskularisation.

- Gewebekultur: Auswachsen von schlanken, bipolaren Zellen in paralleler Anordnung. In einiger Entfernung vom Explantat Bildung einer vernetzenden Struktur. Kleine Fibroblastenkolonien am Außenrand der Explantate.
- Chromosomen: 6 Kulturen; 9. Wachstumstag
- 6 46,XY;
- 6 42,2E-,D-,2G-,1mar+,1dic+;
- 8 41,2E-,D-,2G-,1mar+,1dic+;
- 4 32-39; 1 mar, 1 dic;
- Die hypodiploiden Metaphasen zeigten strukturelle Veränderungen. Konstant fand sich ein akrozentrisches und ein dicentrisches Markerchromosom. Außerdem ließ sich ein konstanter Verlust akrozentrischer Chromosomen feststellen. In einigen Mitosen präparationsbedingte unsystematische Chromosomenverluste.

T 665

- Histologie: Multiformes Glioblastom: Polymorphes Schnittbild mit ausgeprägter Sekundärstrukturierung. Teils Areale mit polymorphen Kernen, teils solche mit kleinen chromatindichten Kernen. Einzelne Bezirke zeigten große plumpe, reaktiv veränderte Astrozyten. Starke Vaskularisation und zahlreiche Nekrosen.
- Gewebekultur: Proliferation schlanker bipolarer Zellen mit Neigung zur Vernetzung weiter außerhalb vom Explantat. Mäßige Kernpolymorphie und vereinzelt mehrkernige Astrozyten. Gelegentlich Unterwanderung der Kulturen durch Fibroblasten.
- Chromosomen: 10 Kulturen; 7. Wachstumstag
- 27 46,XY;
- 4 45,G-;
- 4 -.-.-;
- Zusätzlich zu den normalen diploiden Metaphasen fanden sich G-monosome (45,G-) Chromosomensätze. Aufgrund der

relativ isomorphkernigen Gewebekultur ließ sich nicht sicher bestimmen, ob mit den analysierten Mitosen auch die Tumorzellen mit erfaßt wurden.

T 754

- Histologie:** Multiformes Glioblastom: Überwiegend nekrotisches Material. In einer erhaltenen Zone sehr polymorphzelliges Tumorgewebe. Die Kerne waren zum Teil nur als plumpe Kernschatten zu erkennen. Zahlreiche häufig regressiv veränderte Gefäße auch in den nekrotischen Arealen.
- Gewebekultur:** Überwiegendes Auswachsen von Fibroblasten. Dazwischen spärliche Proliferation polymorpher, stumpfspindelter Zellen. Gelegentlich Auftreten von Symplassen und pathologischen Mitosen.
- Chromosomen:** 8 Kulturen; 7. Wachstumstag
- 30 46,XX;
 - 2 47,C+;
 - 11 -.-.-
 - 3 92; end.
 - 6 67-87 (gezählt)
- Entsprechend der intensiven Fibroblastenproliferation überwogen Metaphasen mit normalem Karyotyp. Wegen schlechter Spreitung waren nur 2 Metaphasen der hypotetraploiden Stammlinie zu karyotypieren. Es fanden sich keine Markerchromosomen.

T 758

- Histologie:** Multiformes Glioblastom: Überwiegend nekrotisches Material. In einem kleinen erhaltenen Areal von mäßiger Zelldichte fanden sich neben polymorphkernigen Blastomzellen protoplasmatische Astrozyten mit stark eosinophilem Zytoplasma.
- Gewebekultur:** Unterschiedliche Zellmorphologie der einzelnen

Kulturen. Einmal stark proliferierende Fibroblastenkolonien, zum anderen Auswachsen von plumpen Zellen ähnlich protoplasmatischen Astrozyten; in deren Nachbarschaft vereinzelte Bezirke mit starker Polymorphie.

Chromosomen: 7 Kulturen; 7. Wachstumstag

14 46,XY;

12 45,G-;

2 44,2G-;

3 -.-.-;

2 92; end

1 65

5 94-100 (gezählt)

Bei der Stammlinie mit 46 bzw. 45 Chromosomen fanden sich außer vereinzelten Chromatidbrüchen keine strukturellen Veränderungen.

Die Chromosomenmorphologie der hypertetraploiden Metaphasen war qualitativ erheblich schlechter als diejenige der übrigen Metaphasen. Daher konnten sie nicht karyotypiert werden.

Außerdem waren die Metaphasen entsprechend ihrer Chromosomenzahl unterschiedlich verteilt. Während sich in einigen Proliferationszonen nur hypertetraploide Chromosomensätze fanden, waren in den übrigen Proliferationszonen die diploiden und G-monosomen (45,G-) Chromosomensätze gemeinsam anzutreffen, in gleicher Weise wie in der Gewebekultur eine arealweise getrennte Proliferation von Fibroblasten und Tumorgewebe festzustellen war.

T 763

Histologie: Multiformes Glioblastom: Sehr polymorphzelliger Tumor. Kerne in Chromatingehalt stark wechselnd. Vielkernige Riesenzellen und zahlreiche pathologische Mitosen. Vaskularisation stark vermehrt.

Kapillaren zum Teil durch Endothelproliferation obliteriert.

Gewebekultur: Bizarre Zellmorphologie. Sehr lebhaft Proliferation äußerst polymorphkerniger Zellen. Zahlreiche pathologische Mitosen, Symplasmen und Synkarien. Ungeordnete Wachstumsrichtung der plumpen Zellen mit meist kurzen Fortsätzen. Kein Fibroblastenwachstum.

Chromosomen: 9 Kulturen; 8. Wachstumstag

1	46,XX;		
6	43-45	6	75
3	46-47	7	76
6	56-70	5	77-81
3	71	2	140
6	72	2	146
7	73	2	148
7	74	1	152

Es fand sich eine hypertriploide Stammlinie mit einer Chromosomenzahl zwischen 72 und 76.

Bei 7 Mitosen waren zusätzlich zwischen 2 und 17 double minutes zu finden (Abb.6 und 7). 12 Metaphasen mit 72 bis 76 Chromosomen konnten karyotypiert werden. Dabei fanden sich keine Chromosomen, die nicht einer der Chromosomengruppen des Denver-Systems zugeordnet werden konnten (Abb.7). Die gefundenen Gruppenverteilung entsprach nicht der Erwartung. So waren Chromosomen der A- und F-Gruppe überrepräsentiert, während Chromosomen der B-Gruppe unterrepräsentiert waren. Die hyperhexaploiden Metaphasen konnten aufgrund ihrer Chromosomenzahl als Endoreduplikationsprodukte der hypertriploiden Metaphasen identifiziert werden.

Die hypodiploiden Metaphasen waren keine Präparationsartefakte, zeigten aber einen unterschiedlichen Karyotyp mit einzelnen strukturellen Veränderungen.

T 893

- Histologie: Gliös-sarkomatöser Misch tumor (?): Zelldichter Tumor mit starker Kernpolymorphie; zum Teil Rieskerne von nierenförmiger Gestalt. Starke Vaskularisation. In einigen Arealen "puzzleartige" Zellbegrenzungen, die ein sarkomatöses Bild vermitteln.
- Gewebekultur: Überwiegende Proliferation schlanker bipolarer Zellen von gleichmäßiger Zell- und Kernmorphologie ähnlich einem fibrillären Astrozytom. Um einige Explantate plumpe runde bis polygonale Zellen mit ovalen Kernen unterschiedlicher Größe. Lebhaftes Fibroblastenproliferation.
- Chromosomen: 5 Kulturen; 6. Wachstumstag
3 46,XX;
2 52-55 (gezählt)
9 85-104 (gezählt)
Eine Karyotypisierung der polyploiden Metaphasen war wegen ungleichmäßiger Spiralisierung der Chromosomen nicht möglich. Eventuell vorhandene Markerchromosomen ließen sich nicht erkennen.

T 568

- Histologie: Oligodendrogliom (-Rezidiv): Typisches Oligodendrogliom mit Anordnung der Kerne im Zentrum von "Honigwaben"-artigen Strukturen. Starke Vaskularisierung mit Proliferation der Gefäßendothelien.
- Gewebekultur: Lebhaftes Proliferation isomorpher Zellen mit exzentrisch liegenden Kernen und plump dreieckiger Außenkontur. Anordnung der Zellen in gebogenen Reihen, zum Teil auch in Rosetten. Gelegentlich Ausbildung der für gezüchtete Oligodendrogliome typischen Knopflochstrukturen (HLAVKA et al. 1970). Diese histologische Anordnung wurde oft durch eine starke Fibroblastenproliferation gestört.

Chromosomen: 8 Kulturen; 9. Wachstumstag
85 46,XX;
1 92; end
4 47,XX,C+;
10 -.-.-;
Möglicherweise stammen die Metaphasen vorwiegend von Fibroblasten.

T 595

Histologie: Oligodendrogliom (-Rezidiv): Zelldichter Tumor mit andeudeter Honigwabenstruktur. In einigen Arealen Beteiligung von astroglia-ähnlichen Elementen, die jedoch in geschwungenen Zügen angeordnet waren. Starke Vaskularisation.

Gewebekultur: Lebhaftes Proliferation von mesenchymalen Zellen. Dazwischen haufenförmig angeordnete kleinkernig isomorphe Zellen. Gelegentlich Anordnung in gebogenen Reihen und Ausbildung von "Knopflochstrukturen".

Chromosomen: 9 Kulturen; 15. Wachstumstag
40 46,XX;
4 46,C+,E-;
1 45,E-,A-,mar+;
1 46,E-,B-,2mar+;
1 46,C-,mar+;
2 45,E-; ace
Bei den Markerchromosomen handelte es sich meist um große akrozentrische Chromosomen. Da es sich um ein Rezidiv eines operierten und nachbestrahlten Astrozytoms handelt, können die gelegentlichen strukturellen Veränderungen Folge der Bestrahlung sein.

T 734

Histologie: Oligodendrogliom (-Rezidiv): Typische Honigwabenstruktur mit isomorphen, runden Kernen von gleichmäßiger Chromatindichte. Geringe Vaskularisation.

Gewebekultur: Auswachsen von typischen dreieckigen Zellen mit randständigen Kernen und feinen Fortsätzen. Ausbildung von Knopflochstrukturen. Nur ganz vereinzelte Fibroblasten.

Chromosomen: 6 Kulturen; 6. Wachstumstag

13 46,XX;

2 -.-.-;

Die stark proliferierten Kulturen zeigten zum Untersuchungszeitpunkt keine Mitosen. Es ist nicht auszuschließen, daß die weiter außerhalb der Proliferationsareale liegenden Zellteilungsfiguren überwiegend von Fibroblasten stammen.

T 760

Histologie: Oligodendrogliom: Zelldichter Tumor mit einheitlichen ovalen heterochromatinreichen Kernen. In einigen Arealen netzige, bzw. Honigwabens-Strukturen. Stark geknäuelte Gefäßsprossen. Ausgedehnte Blutungen.

Gewebekultur: Lebhaftes Auswachsen von isomorphen, dreieckigen Zellen mit exzentrisch liegendem Kern und feinen Fortsätzen. Die Zellen vereinigten sich zu charakteristischen Knopflochmustern. In einigen Arealen geschlossene Fibroblastenkolonien.

Chromosomen: 7 Kulturen; 9. Wachstumstag

30 46,XX;

5 45,XX,E-;

11 -.-.-;

1 47,XX,C+;

4 92; end

5 91-88; end

Bei den analysierten Metaphasen fanden sich keine strukturellen Veränderungen. Die polyploiden Metaphasen zeigten eine Verdoppelung des normalen Chromosomensatzes, der in einigen Fällen infolge von

Präparationsartefakten nicht vollständig war.

T 751

Histologie: Entdifferenziertes Oligodendrogliom: Sehr zellreicher Tumor. Die runden, isomorphen Kerne lagen in einer wabigen Grundstruktur. Zahlreiche Mitosen. Sehr starke Vaskularisation. Vereinzelt Blutungen und Nekrosen. Gelegentlich kleine Pseudorosetten ohne zentrales Gefäß.

Gewebekultur: Vorwiegendes Auswachsen von schlanken, bipolaren Zellen. In einigen Arealen Ausbildung von typischen oligodendrogliomartigen Knopflochstrukturen. Am Rand einiger Proliferationszonen polymorphe Zellen und Symplasmen. Vereinzelte Fibroblasten.

Chromosomen: 5 Kulturen; 7. Wachstumstag

- 17 46,XY;
- 2 -.-.-;
- 3 45,G-;
- 1 44,F-,G-;
- 1 43,C-,2G-;
- 1 48,G+,mar+;
- 4 49,F+,G+,mar+;
- 5 50,C+,F+,G+,mar+;

Die diploiden Metaphasen hatten einen normalen Karyotyp. Daneben fanden sich eine hyperdiploide Stammlinie mit 49 bzw. 50 Chromosomen (Abb.7). Ein Chromosom von der Länge eines C-Chromosoms war aufgrund seines Zentromerindex als Markerchromosom zu identifizieren. Auffallend war bei den wenigen hypodiploiden Metaphasen, daß bei ihnen die gleichen Chromosomen fehlten, die bei der hyperdiploiden Stammlinie überzählig waren.

T 787

Histologie: Entdifferenziertes Oligodendrogliom: Lockere An-

ordnung relativ runder, heller Kerne in einer wabigen Grundstruktur. Starke Kapillarwucherung, zum Teil in Form von Glomeruli. Zahlreiche ausgedehnte Nekrosen und Blutungen. In einigen Arealen starke Kernpolymorphie.

Gewebekultur: Kräftiges Auswachsen plump spindelig Zellen mit meist nur einem zur Peripherie gerichteten Fortsatz. In einigen Explantaten Anordnung polygonaler Zellen mit kurzen Fortsätzen zu einer oligodendrogliom-typischen Struktur. Vereinzelte Fibroblastenkolonien.

Chromosomen: 7 Kulturen; 7. Wachstumstag

19 46,XY;

6 45,G-;

6 -.-.-

1 47,XY,G+;

1 47,XY,C+;

2 92, end.

8 (43-45 (gezählt)

Die diploiden Metaphasen lagen in einzelnen Kolonien zusammen. In ähnlicher Anordnung fand sich in der Gewebekultur das Fibroblastenwachstum. In dem überwiegenden Anteil der Kulturen fanden sich nur sehr vereinzelt Metaphasen, die jedoch wegen schlechter Spreitung nur gezählt, nicht aber analysiert werden konnten.

T 667

Histologie: Medulloblastom: Zellreicher Tumor mit Pseudorosettenbildung. Isomorphe chromatinreiche Kerne. Keine regressiven Veränderungen.

Gewebekultur: Unterschiedliche Kulturstrukturen. Einmal gebündelte Faserstrukturen an deren Rändern plumpe Zellen mit scharf begrenzten eckigen Kernen lagen.

Daneben fibroblastenähnliche Zellen.

Chromosomen: 10 Kulturen; 14. Wachstumstag
19 46,XY;
7 -.-.-;
2 4I,2D-,2E-,G-;

Es ließ sich deutlich feststellen, daß die auswertbaren Metaphasen nur in den Wachstumszonen der Fibroblasten lagen. Die in den Proliferationsarealen der Tumorzellen liegenden Mitosen konnten nicht analysiert werden.

T 805

Histologie: Medulloblastom: Zellreicher Tumor mit kleinen chromatinreichen Kernen und spärlicher Interzellularsubstanz. Pseudorosettenbildung. Geringe Kernpolymorphie.

Gewebekultur: Rege Proliferation isomorpher Zellen mit chromatinreichen Kernen, die durch faserige Strukturen miteinander verbunden waren und einzelne Fibroblasten einschlossen.

Chromosomen: 10 Kulturen; 7. Wachstumstag
22 46,XX;
4 -.-.-;
3 92; end.
10 92; (gezählt)

Die gefundenen Chromosomensätze zeigten keine strukturellen Veränderungen. 10 tetraploide Mitosen konnten wegen einer Überlagerung der Chromosomen durch körnige Ausfällung des Plasmaclots nicht eindeutig analysiert werden. Möglicherweise handelte es sich um das Endoreduplikationsprodukt normaler Chromosomensätze.

Chromosomenbefunde der Astrozytom-Glioblastom-Gruppe in der Reihenfolge ihres Entdifferenzierungsgrades

nr	Diagnose	46,XX; 46,XY	45,X,-	47,C+	hypodiploide Chromosomenzahl	hypertriploide Chromosomenzahl	(hyper)tetraploide Chromosomenzahl
0	Kleinhirnaströzytom	16	6				
1	Glilläres Astrozytom	30	9	3 47,XX,A+			
2	Protoplasmat. Astrozytom	30	10	1			
3	Entdiffer. prot. Astrozytom	24	5				
4	Entdiffer. prot. Astrozytom	21	14	3		3 (80-86) 5 (78) 9 (74-77)	5 (130-156)
5	Entdiffer. prot. Astrozytom	17	2		6 39 (Abb. 1) 49 45,2mar (Abb. 2) 8 43-44; 2mar		3 90; 4 mar (end)
6	Entdiffer. fibr. Astrozytom	19	7				1 92 (end)
7	Entdiffer. fibr. Astrozytom	13	5	10 (Abb. 3)	11 (44-45)		2 (88)
8	Fusiformes Glioblastom	30	9	14	9 44,6-C- 4 32-39; 2 mar 14 42-41; 2mar (Abb. 4)		1 90, 26-
9	Fusiformes Glioblastom	6					
10	Multiformes Glioblastom	27	4	4			
11	Multiformes Glioblastom	30	11	2		6 (71-87)	3 92 (end)
12	Multiformes Glioblastom	14	3	12	2 44,26- 6 (43-45) 12 (46-70)	1 65 38 (72-78) (Abb. 6) 5 (79-81)	5 (94-100) 7 (140-152)
13	Multiformes Glioblastom	1			2 (52-55)		9 (85-104)
14	Glio-sarkomatöser Hirntumor (?)	3					

Chromosomenbefunde der Oligodendrogliome und Medulloblastome

Chromosomenzahl	46,XX; 46,XY;	-,-,-	45,G-	47,C+	hypodiploide Chromosomenzahl	hyperdiploide Chromosomenzahl	tetraploide Chromosomenzahl
T 568 Oligodendrogliom	85	10		4			
T 595 Oligodendrogliom	40				6 46; 1 mar		
T 734 Oligodendrogliom	13	2					
T 760 Oligodendrogliom	30	16		1			8 92 (end)
T 751 Entdiff.Oligodendrogliom	17		3			4 49; 1mar 5 50; 1 mar (Abb.7)	
T 787 Entdiff.Oligodendrogliom	19	6	6	1	8 (43-45)		
T 667 Medulloblastom	19	7			2 41		
T 805 Medulloblastom	22	4					13 92 (end)

DISKUSSION

Von einigen Autoren sind in den letzten Jahren Versuche beschrieben worden, Hirntumoren nach Züchtung in einer Zellkultur zytogenetisch zu untersuchen. Doch enttäuschten die gewonnen Befunde, da sich meist nur normale Chromosomensätze fanden. Ein Hauptgrund für diesen Mißerfolg lag vermutlich in der Zusammensetzung und Darbietungsweise des Züchtungsmediums. Die von manchen Untersuchern beobachtete überwiegende Fibroblastenproliferation zeigt, daß die von ihnen gewählten Züchtungsbedingungen das in vivo-Milieu des Tumors nicht im ausreichenden Maß ersetzten. Durch Züchtungszeiten, die oft erheblich länger waren als die in unserer Untersuchung, wurde eine Überwucherung der Tumorzellen durch Bindegewebszellen noch verstärkt.

So fand MARK (1971) nach zehntägiger bis 3-monatiger Züchtung von entdifferenzierten Astrozytomen und Glioblastomen nur normale Chromosomensätze, während er bei der Direktpräparation der gleichen Tumoren überhaupt keine Mitosen mit normalem Karyotyp nachweisen konnte. Andere Autoren berichten über ähnliche Ergebnisse (WILSON et al. 1970, CONEN 1967). In denjenigen Fällen, bei denen es gelang, die Tumorzellen nach Züchtung in der Kultur chromosomal zu erfassen, war oft die Anzahl der Mitosen zu gering, um eine Stammlinie bestimmen zu können (HANSTEEN 1967 und KOTLER 1967). Diese Befunde bringen zum Ausdruck, daß es notwendig war, andere Züchtungsbedingungen zu erproben, um diese Mißerfolge zu vermeiden.

Die von uns verwendete Züchtungsmethodik hatte bereits bei den Untersuchungen von KERSTING gezeigt, daß sie eine stärkere Bindegewebsproliferation bei der in vitro-Züchtung von Hirngeschwülsten unterdrückt. In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, daß diese Methodik auch zur Chromosomenuntersuchung von Meningeomen geeignet war (ZANG und SINGER 1967). Die Befunde unserer Untersuchung zeigten nun, daß mit Hilfe dieser Züchtungsmethodik auch das Chromosomenspektrum hirneigener Geschwülste untersucht werden kann. Gleichzeitig zeigten unsere Befunde aber auch die noch zu lösenden Probleme auf.

So mußten wir feststellen, daß trotz einer überwiegenden Tumorzellproliferation die gleichzeitig vorhandenen wenigen Fibroblastenkolonien zum Untersuchungszeitpunkt eine wesentlich stärkere mitotische Aktivität als die Tumorzellen aufzuweisen schienen. Die wahrscheinlichste Erklärung

für diese widersprüchliche Beobachtung besteht darin, daß die in Teilung befindlichen Tumorzellen während der Chromosomenpräparation vermutlich eine geringere Haftung auf der Glasoberfläche besitzen als die Fibroblasten und deshalb häufiger verloren gehen. Es müssen daher die bei einigen unserer entdifferenzierten Astrozytome (T 733 und T 897) gefundenen normalen Chromosomensätze mit Zurückhaltung bewertet werden, weil die eigentliche Tumorzellpopulation nicht mit Sicherheit erfaßt worden ist.

Eine weitere Schwierigkeit bestand darin, daß gelegentlich zwar in einigen Arealen deutlich aneuploide Metaphasen gefunden wurden, sie jedoch im Gegensatz zu den normalen Chromosomensätzen wegen mangelhafter Darstellung nicht sicher analysierbar waren. Die Ursache für die manchmal mangelhafte Qualität aneuploider Metaphasen in unserer Untersuchung lag einmal in der durch den dichten Wuchsverband bedingten ungenügenden Spreitungsmöglichkeit während der Hypotonie-Behandlung (T 787, T 754 und T 829) und zum anderen in der für Tumorchromosomen typischen und auch an unserem Material beobachteten inneren Asynchronie, d.h. einer ungleichmäßigen Spiralisation der einzelnen Chromosomen, die zwar eine Zählung erlaubt, aber eine Karyotypierung unmöglich macht (Abb. 1, T 764). Trotz dieser Schwierigkeiten konnte mit Hilfe unserer Züchtungsmethodik eine größere Anzahl von intrakraniellen Geschwülsten zytogenetisch untersucht werden, als bei Abschluß dieser Untersuchung im Jahre 1970 in der Literatur insgesamt veröffentlicht waren.

Die Chromosomenuntersuchungen anderer Autoren erfolgten, sofern sie nicht mit Hilfe einer Direktpräparation durchgeführt wurden, vorwiegend nach Anzüchtung von Zellsuspensionen. Dabei bilden sich in der Regel keine gewebeähnlichen Strukturen aus, sodaß man bei dieser Kultivationsmethodik besser von Zellzüchtung spricht.

Bei der Züchtung von Explantaten wie sie in Anlehnung an KERSTING von uns durchgeführt wurde handelt es sich dagegen um eine Sonderform der Gewebezüchtung, da sich hier eine deutliche Organisation des in vitro proliferierenden Zellverbandes ausbildet. KERSTING

fand, daß die unter seinen Züchtungsbedingungen in einem Monolayer sich anordnenden Zellelemente eine starke Ähnlichkeit mit der Zellmorphologie des Schnittpräparates zeigen und zusätzlich die für die betreffende Tumorentart charakteristischen histologischen Strukturen in der Gewebekultur in ein zweidimensionales System übersetzen. In unserer Untersuchung ließ sich ebenfalls entsprechend der histologischen Struktur des Schnittbildes eine charakteristische Kulturförm feststellen, die mit der von KERSTING beschriebenen weitgehend übereinstimmte.

Für die zytologische Einordnung der Geschwulstarten ist die in vitro-Organisation des Zellverbandes wichtiger als die Morphologie der Einzelzellen; deshalb kann mit Hilfe der in der Gewebekultur ausgebildeten histologischen Struktur die Herkunft der proliferierenden Zellelemente besser diagnostiziert werden als in einer unorganisierten Zellkultur.

Dieser Organisationsverband blieb, wie bereits erwähnt, bei der Chromosomenpräparation erhalten, da die Chromosomen ohne vorherige Ablösung der Zellen direkt auf den Deckgläsern präpariert wurden. Die Anwendung dieser Züchtungs- und Präparationsmethodik ermöglicht eine topographische Beschreibung von Zellmorphologie und Karyotyp.

Obwohl man KERSTING zustimmen muß, daß in vitro die Kulturformationen zytologisch einheitlicher als im Schnittbild zu studieren sind, so kann man doch gelegentlich unterschiedliche Formationen in der Gewebekultur feststellen. Durch unsere Methodik war es nun möglich, der Fragestellung nachzugehen, ob die in einigen Fällen zu beobachtende unterschiedliche Kulturformation durch den Nachweis der topographischen Verteilung unterschiedlicher Stammlinien auf den Chromosomenpräparaten bestätigt werden kann.

Bei Chromosomenuntersuchungen an Tumoren nach Züchtung in vitro kann eine Selektionierung bestimmter Zelltypen eintreten, sodaß die gefundenen Chromosomensätze nicht mehr unbedingt denen des

ursprünglichen Tumors entsprechen. Die Gefahr einer solchen Selektionierung wurde von uns einmal durch eine möglichst kurze Züchtungszeit von nur wenigen Zellzyklen eingeschränkt; zum anderen erwies sich wie erwähnt die Zusammensetzung des Nährmediums von entscheidender Bedeutung. Vergleichende Untersuchungen von KERSTING (1961) haben gezeigt, daß das von ihm eingeführte und von uns geringfügig modifizierte Nährmedium besonders für die Züchtung menschlicher Hirntumoren geeignet ist. Je mehr das Nährmedium den in vivo-Bedingungen des Tumors entspricht, umso geringer ist ebenfalls die Möglichkeit der Selektionierung bestimmter Zelltypen, die infolge ihres Genotyps sich leichter an die veränderten Bedingungen anpassen können und damit im Primärtumor bestehende Stammlinien oder eine chromosomale Polymorphie verdrängen.

Ob dies auf unsere Ergebnisse zutrifft, zeigt ein Vergleich der von uns gefundenen Chromosomensätze mit solchen, die durch Direktpräparation gewonnen wurden und bei denen gesichert ist, daß sie für den Primärtumor repräsentativ sind. Vor den Untersuchungen von MARK (1970 a,b und 1971 a,b), die erst nach Abschluß der hier vorgelegten Untersuchung veröffentlicht wurden, lagen solche Chromosomenbefunde von Hirngeschwülsten nur in geringer Zahl vor (CONEN 1967, ERKMAN 1964, LUBS 1965, BICKNELL 1967, KOTLER 1965, COX 1968). Da MARK seine Untersuchung in Direktpräparation durchführte und mit über 60 intrakraniellen Geschwülsten die Anzahl der von den anderen Autoren insgesamt untersuchten Tumoren um ein Mehrfaches übertraf, werden im folgenden vor allem seine Befunde zum Vergleich herangezogen.

Die Geschwulstgruppe der entdifferenzierten Astrozytome und Glioblastome (Astrozytome Grad 3-4 entsprechend seiner histologischen Einteilung) ist von ihm an Hand von 50 Tumoren am ausführlichsten untersucht worden (1971). Die Chromosomenzahl der Stammlinien seiner Untersuchung variierte zwischen dem hypodiploiden und hypotetraploiden Bereich, wobei 37 Tumoren Stammlinien von 45 ± 2 Chromosomen zeigten. 38 Tumoren seiner Untersuchung wiesen in ihrer Stammlinie ein oder mehrere Markerchromosomen auf. Die Metaphasen

der entdifferenzierten Astrozytome und Glioblastome unserer Untersuchung zeigten ebenfalls Chromosomenzahlen im gleichen numerischen Bereich. In denjenigen Fällen, wo eine Stammlinie analysiert werden konnte, ließen sich wie in der Untersuchung von MARK oft Markerchromosomen nachweisen (T 672, T 753), jedoch ließ sich deutlicher als bei MARK eine Korrelation zwischen Histologie und Chromosomenzahl feststellen. So waren vorwiegend die entdifferenzierten Astrozytome und die fusiformen Glioblastome durch hypodiploide Chromosomenzahlen charakterisiert (siehe Tabelle 1). Dies entsprach auch ihren untereinander sehr ähnlichen und relativ isomorphen Verhalten in der Gewebekultur. Bei einem multiformen Glioblastom (T 763) fand sich dagegen in unserer Untersuchung eine Stammlinie mit einer Modalzahl im hypotetraploiden Bereich. Bei zwei weiteren multiformen Glioblastomen (T 754, T 758) fanden sich Metaphasen im hypo- und hypertetraploiden Bereich, wobei sich jedoch wegen ihrer geringen Anzahl keine Stammlinie bestimmen ließ. Der gegenüber den Astrozytomen stärkere Entdifferenzierungsgrad kam durch eine vermehrte Streuung der Chromosomenzahl zum Ausdruck (T 763).

Als charakteristisch für hirneigene Tumoren und periphere Neuroblastome ist ein häufiges Auftreten von sogenannten "double minutes" beschrieben, wobei oft nicht zu entscheiden ist, ob es sich um zentrische oder azentrische Fragmente handelt (COX 1965, LUBS 1965 und 1966, LEVAN 1968). MARK fand ebenfalls bei einem Viertel seiner 50 untersuchten malignen Astrozytome und Glioblastome solche Fragmente (MARK 1971, MARK und GRANBERG 1970). Dabei zeigten zwischen 5% und 100% aller untersuchten Metaphasen dieser 13 Tumoren zwischen 1-20 double minutes pro Zelle. In unserer Untersuchung waren bei 2 Tumoren in 10% der untersuchten Metaphasen double minutes zu finden (T 763, multiformes Glioblastom und T 764 entdifferenziertes Astrozytom), wobei bei T 764 nur 1 und bei T 763 2-17 double minutes pro Zelle zu finden waren (Abb. 5).

Chromosomenuntersuchungen an differenzierten Astrozytomen sind in der Literatur spärlich. Ein Grund hierfür mag sein, daß bei diesen relativ gutartigen Geschwülsten nur durch eine Kurzzeitzüchtung

eine genügend große Anzahl von Mitosen für eine zytogenetische Untersuchung angereichert werden kann. Bei dem einzigen bisher beschriebenen Versuch trat nur ein mesenchymales Wachstum auf (CONEN 1967). In unserer Untersuchung zeigten ein Kleinhirnastrzytom (T 730) und ein fibrilläres Astrozytom (T 828) einen überwiegend normalen Karyotyp. Bei T 828 fanden sich zusätzlich 3 Metaphasen mit einem überzähligen Chromosom der Gruppe A. Diese Einheitlichkeit des Chromosomenbefundes steht in guter Übereinstimmung zu dem isomorphen Wachstum dieser Geschwülste in der Gewebekultur.

Beim Auftreten von normalen Chromosomensätzen muß zwar immer die Möglichkeit berücksichtigt werden, daß nicht die Tumorzellen, sondern Bindegewebszellen analysiert worden sind, jedoch war in der Gewebekultur von differenzierten Astrozytomen eine stärkere Fibroblastenproliferation nicht nachzuweisen. Da Befunde anderer Autoren fehlen, muß offenbleiben, ob grundsätzlich normale Chromosomensätze bei differenzierten Astrozytomen vorkommen können.

Es sind bisher von anderen Autoren lediglich 4 Oligodendrogliome chromosomal untersucht worden (MARK 1971a, 1971b und LUBS 1965). MARK fand bei einem differenzierten Oligodendrogliom eine Stammlinie, die sich nur durch ein zusätzliches kleines akrozentrisches Chromosom vom normalen Karyotyp unterschied. LUBS fand bei einem differenzierten Oligodendrogliom eine Verdoppelung des normalen Karyotyp als Stammlinie. Bei unseren 4 differenzierten Oligodendrogliomen waren jeweils vorwiegend normale Chromosomensätze zu finden und in einem Fall (T 595) zeigten einige Metaphasen mit 46 Chromosomen zusätzliche morphologische Veränderungen (Pseudodiploidie), und in einem anderen Fall (T 760) fanden sich zahlreiche Endomitosen von normalen Chromosomensätzen. Inwieweit diese Befunde durch sich teilende Fibroblasten mitbedingt sind, muß offenbleiben. Das Bild der Gewebekultur, sowie die ebenfalls wenig vom normalen Karyotyp abweichenden Stammlinien der anderen Autoren, machen jedoch die Annahme wahrscheinlich, daß differenzierte Oligodendrogliome noch über einen normalen Chromosomensatz verfügen können.

Es entsprach auch unseren eigenen Ergebnissen, daß die 2 entdifferenzierten Oligodendrogliome in MARK's Untersuchung stärkere Chromosomenaberrationen mit Stammlinien von 44 bzw. 83 Chromosomen zeigten, wobei bei der letzteren zahlreiche Markerchromosomen festzustellen waren. In unserer Untersuchung ließ sich bei einem entdifferenzierten Oligodendrogliom eine Stammlinie mit 50 Chromosomen nachweisen (T 751) während sich in einem anderen Fall (T 787) hypodiploide Metaphasen mit nicht näher analysierbaren Chromosomensätzen fanden.

Es sind bisher 6 Medulloblastome untersucht worden. Von LUBS (1965) ist ein Fall beschrieben worden, bei dem die 9 untersuchten Mitosen 45-51 Chromosomen und zahlreiche double minutes zeigten. KOTLER (1967) fand bei einem Medulloblastom eine Stammlinie mit 51 Chromosomen. Bei 2 Medulloblastomen fand MARK (1970) Stammlinien mit 45 Chromosomen, wobei Markerchromosomen fehlten. Diese untersuchten Medulloblastome sind alle bei Kindern diagnostiziert worden. Nur MARK (1971) beschrieb ein Medulloblastom, das von einer 26-jährigen Frau stammte. Er fand hier eine Stammlinie mit normalem Chromosomensatz. Ein Medulloblastom unserer Untersuchung (T 805) stammte von einer 34-jährigen Frau und es besaß ebenfalls einen normalen, bzw. tetraploiden Chromosomensatz. Bei dem anderen von uns untersuchten Medulloblastom eines 7-jährigen Kindes war es wahrscheinlich, daß die gefundenen normalen Chromosomensätze vorwiegend von Fibroblasten stammten.

Aufgrund des Vergleiches der durch Direktpräparation gewonnenen Ergebnisse mit unseren Befunden, läßt sich feststellen, daß die bei der Direktpräparation zu findenden strukturellen Chromosomenveränderungen wie Markerchromosomen und double minutes auch noch nach Züchtung in der Gewebekultur beobachtet werden können. Ebenso wurde eine für stark entdifferenzierte Tumoren charakteristische Streubreite der Chromosomenzahl durch Züchtung in der Kultur nicht eliminiert. Die vorliegende Untersuchung zeigt also, daß mit Hilfe der von uns verwendeten Züchtungsmethodik auch das Chromosomenspektrum von Hirngeschwülsten mit niedrigerem Mitoseindex zugänglich gemacht werden kann.

Darüberhinaus lassen sich durch diese Untersuchung noch weitere Fragestellungen beantworten. Der Vergleich von Chromosomenbefund und Histologie ergibt, daß dem vorherrschenden Zelltyp des Schnittbildes, bzw. der Gewebekultur kein typischer Chromosomensatz zugeordnet werden kann. Dafür läßt sich an Hand unserer Befunde deutlicher als bei den Ergebnissen der bisherigen Untersucher eine Korrelation zwischen dem Entdifferenzierungsgrad des Schnittbildes bzw. der Gewebekultur feststellen. Aufgrund unserer Befunde ist die Annahme berechtigt, daß differenzierte Oligodendrogliome und Astrozytome noch über einen normalen Chromosomensatz verfügen und die beginnende Entdifferenzierung dieser Geschwulstarten durch aneuploide Metaphasen vorwiegend im diploiden Bereich zu erkennen ist. Die multiformen Glioblastome zeigen dagegen überwiegend hypotetraploide Metaphasen, wie sie auch bei anderen malignen Tumoren des Menschen anzutreffen sind. Diese hypotetraploiden Chromosomensätze sind fast immer das Ergebnis einer Endoreduplikation mit anschließendem Verlust einzelner Chromosomen (ISING und LEVAN 1958).

Ein weiterer Befund unserer Untersuchung erscheint so wesentlich, daß er hier ausführlich besprochen werden soll. Bei den Tumoren T 758, T 829 (multiformes bzw. fusiformes Glioblastom) und T 787 (entdifferenziertes Oligodendrogliom) fanden sich neben unregelmäßig aneuploiden Metaphasen zusätzlich nicht nur normale sondern auch einheitlich G-monosome (45,G-) Chromosomensätze. Bei T 665 und T 727 (multiformes bzw. fusiformes Glioblastom) fanden sich nur normale und G-monosome (45,G-) Chromosomensätze. Die normalen Metaphasen stammen sicherlich überwiegend von Bindegewebszellen; für die G-monosomen Chromosomensätze sind jedoch zwei Möglichkeiten der Herkunft zu diskutieren.

Es ist anzunehmen, daß Chromosomenveränderungen bei Tumoren in der Regel in mehreren Schritten ablaufen. Jedoch werden spontane Tumoren meist erst zu einem Zeitpunkt chromosomal untersucht, zu dem bereits frühe Stadien der Chromosomenveränderung nicht mehr zu erfassen sind. Einen Sonderfall stellt die chronische myeloische Leukämie dar, bei der sich in Frühstadien und während Remissionen meist nur die Deletion eines G-Chromosoms (Philadelphia-Chromosom) nachweisen

läßt (NOWELL und HUNGERFORD 1960), während im akuten Schub starke numerische und strukturelle Chromosomenveränderungen zu finden sind. Inzwischen konnte bei einem weiteren Tumor ein ähnlicher Mechanismus nachgewiesen werden. Beim Meningeom beginnen die Chromosomenveränderungen fast immer mit dem Verlust eines G-Chromosoms, in dem weiteren Verlauf der tumoralen Entwicklung weitere Chromosomenverluste folgen (SINGER und ZANG 1970). Diesem Verlust des G-Chromosoms wurde der Charakter eines Auslösers für eine vermehrte Zellteilungsrate zugeschrieben (ZANG und SINGER 1967). Solche initialen Chromosomenveränderungen sind bei malignen Tumoren mit stark veränderten Chromosomensätzen nur indirekt zu erkennen.

Findet man bei mehreren Tumoren mit unterschiedlichen Chromosomensätzen bestimmte Übereinstimmungen in den Chromosomenveränderungen, so kann man daraus schließen, daß diese Veränderungen zu einem frühen Zeitpunkt der Tumorentwicklung aufgetreten sind, zu dem sich diese Chromosomensätze noch nicht wesentlich voneinander unterschieden. So errechneten LEVAN (1966) und gleichzeitig VAN STENIS (1966) aufgrund der von MAKINO et al. (1964) und ISHIHARA (1963) veröffentlichten Chromosomenbefunde bei malignen menschlichen Tumoren, daß in den hyperdiploiden Chromosomensätzen die G-Chromosomen relativ zu wenig vermehrt sind. Leichter ist es aber, wenn man aufgrund parallel bestehender Zelllinien unterschiedlichen Entdifferenzierungsgrades innerhalb eines Tumors die clonale Entwicklung eines stark veränderten Chromosomensatzes bis zu seinem vermutlichen Anfang zurückverfolgen kann. Meist fehlen jedoch diese Bindeglieder der clonalen Entwicklung bei den Chromosomenbefunden maligner Tumoren. Die Möglichkeit, daß solche clonalen Entwicklungsstufen auch bei Hirntumoren vorliegen, ergibt sich aus der Tatsache, daß bei stark veränderten Chromosomensätzen zusätzlich G-monosome Nebenlinien vorkommen und daß bei verwilderten Chromosomensätzen häufiger akrozentrische Chromosomen fehlen, als statistisch zu erwarten wäre. Daß es sich hierbei nicht um einen Präparationsartefakt handelt, zeigt sich darin, daß bei normalen Zellen akrozentrische Chromosomen eher seltener verloren gehen als statistisch, d.h. aufgrund ihrer relativen Größe und Häufigkeit innerhalb des Chromosomensatzes zu erwarten wäre (ZANG und ZANKL 1970). Somit könnte

aufgrund der oben angeführten Befunde anderer Untersucher angenommen werden, daß die in einigen Fällen unserer Untersuchung gefundenen G-monosomen Metaphasen im Beginn der tumoralen Entwicklung befindliche Zellen repräsentieren.

Andererseits finden sich Hinweise, daß G-monosome Metaphasen auch einen anderen Ursprung haben können. KERSTING (1961) fand in seiner Untersuchung in der Gewebekultur von Glioblastomen im Unterschied zu anderen Hirngeschwulststarten oft eine überstürzte Bindegewebsproliferation, die der Teilungsgeschwindigkeit der Geschwulstzellen nur wenig nachstand. Ebenso ist in vivo eine exzessive Bindegewebswucherung mit Bildung pathologischer Gefäßstrukturen für Glioblastome kennzeichnend. Die meisten Untersucher (u.a. ZOLCH, HORTEGA) sehen in dem mesenchymalen Geschwulstanteil einen reaktiven Prozeß des ortsständigen Bindegewebes. RUBINSTEIN (1971) fand dagegen im Schnittbild einiger Glioblastome mit starker Gefäßendothelproliferation Bindegewebsanteile, die alle Zeichen einer blastomatösen Erartung zeigten. Diese Tumoren wurden von ihm mit dem historischen Begriff des "Gliosarkoms" charakterisiert. GULOTTA (1964) konnte an Hand der Gewebekultur von 6 Glioblastomen eine sarkomatöse Umwandlung des primär reaktiv wuchernden Gefäßbindegewebes feststellen. An Hand des Chromosomenbefundes war in unserer Untersuchung zu beobachten, daß die G-monosomen Metaphasen zusammen mit solchen mit normalen Chromosomensätzen in den Wachstumsarealen zu finden waren, und daß diese Areale aus intensiv proliferierten Bindegewebszellen bestanden (T 758, T 727 und T 829). Daher ist die Annahme möglich, daß die in den Proliferationsarealen der Bindegewebszellen unserer Untersuchung zu findenden G-monosomen Metaphasen den Beginn einer blastomatösen Umwandlung der Bindegewebszellen anzeigen, obwohl in der Gewebekultur eine sarkomatöse Umwandlung des mesenchymalen Glioblastomanteils (noch) nicht festzustellen war.

Es muß das Ziel weiterer Untersuchungen sein, zu prüfen, inwieweit die an diesem relativ kleinen Material gefundene Korrelation zwischen Chromosomensatz und Differenzierungsgrad von Hirngeschwülsten allgemeine Gültigkeit hat. Ihre Bestätigung könnte dem Kliniker zusätzliche Information in Hinblick auf die Prognose liefern.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Untersuchung bestand darin, die Chromosomensätze intrakranieller Geschwülste des Menschen zu untersuchen. Die Chromosomenanalyse erfolgte nach einer Kurzzeit-Züchtung des Biopsiematerials von 5-8 Tagen. Pro Tumor wurden zwischen 22 und 100 Metaphaseplatten ausgewertet.

Untersucht wurden 3 differenzierte und 5 entdifferenzierte Astrozytome, 4 differenzierte und 2 entdifferenzierte Oligodendrogliome, 8 Glioblastome, 2 Medulloblastome.

Die Chromosomenanalyse erfolgte in einer bei der Tumorzytogenetik sonst nicht üblichen Weise, direkt in den Proliferationszonen der Primärexplantate, also ohne Trypsinierung der Kulturen. Dieses Verfahren erlaubt die Prüfung topographischer Zusammenhänge clonaler Entwicklungen, sowie die Zuordnung bestimmter Chromosomensätze zu bestimmten Zelltypen. Verglichen wurden die histologischen Strukturen und der Differenzierungsgrad der Tumoren im Schnittbild, die Charakteristiken der Wuchsverbände in der Gewebekultur und das chromosomale Spektrum.

Es bestätigten sich die Zusammenhänge zwischen dem vorherrschenden Zelltyp des Schnittbildes und der Gewebekultur. Zwischen dem Grad der Entdifferenzierung und der Stärke chromosomaler Veränderungen ließ sich eine enge Korrelation nachweisen. Die Art der chromosomalen Veränderungen ließ jedoch keine Unterschiede zwischen einer bevorzugt astroglialen bzw. oligodendroglialen Morphologie der Tumoren erkennen.

Bei 5 untersuchten Tumoren waren als Stamm- bzw. Nebenlinie Mitosen mit dem Verlust eines G-Chromosoms als einzige chromosomale Veränderung nachzuweisen. - Unter Berücksichtigung der beim Meningeom des Menschen bekannten Systematik chromosomaler Veränderungen wird dieser Befund einmal als Initialform chromosomaler Veränderungen angesehen. 3 der Geschwülste mit starken G-monosomen Nebenlinien zeigten im Schnittbild und in der Gewebekultur eine ungewöhnlich intensive Bindegewebsproliferation. Es wird deshalb diskutiert, ob diese G-monosomen Metaphasen in den Proliferationszonen des Fibroblastenanteils der Gewebekulturen als Beginn einer blastomatösen Umwandlung des Tumorbindegewebes gedeutet werden können.

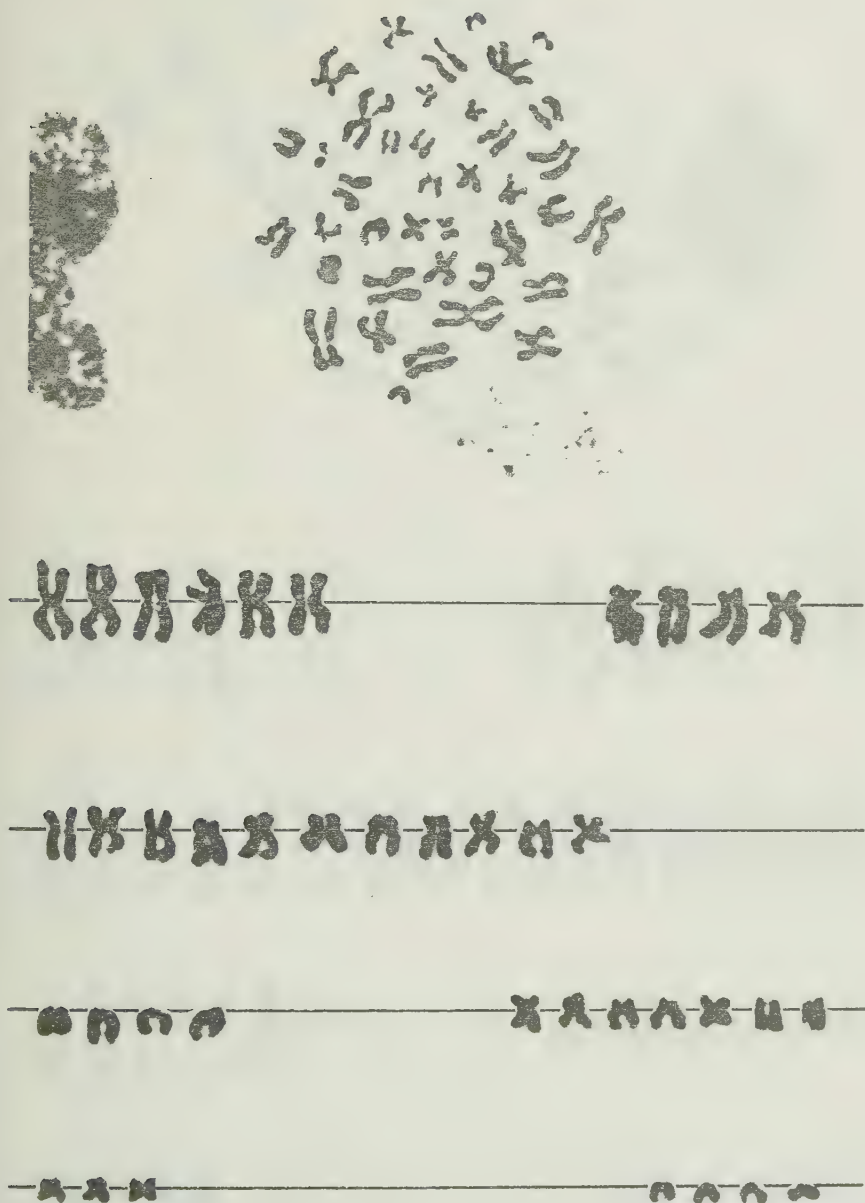
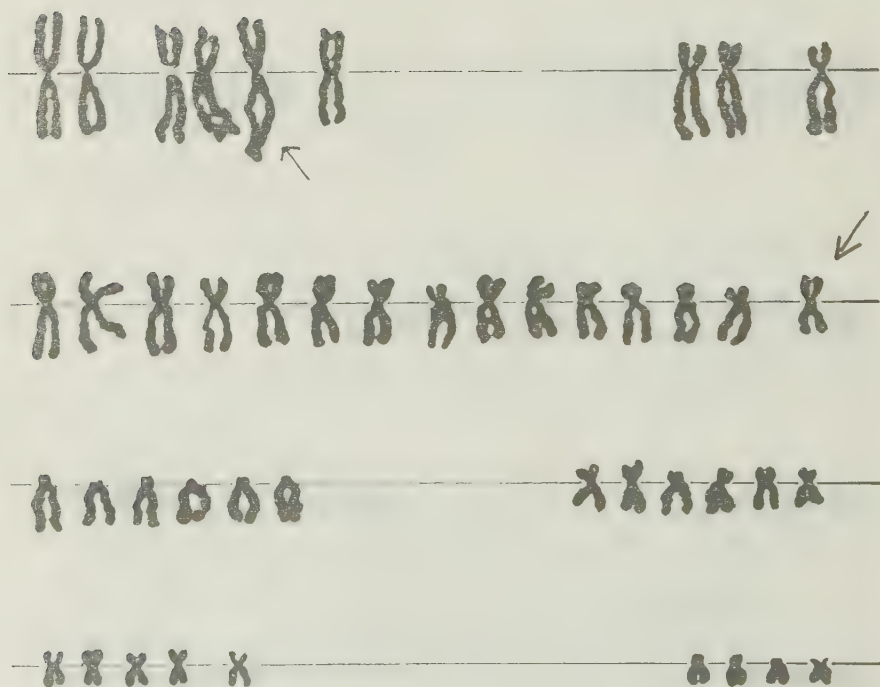
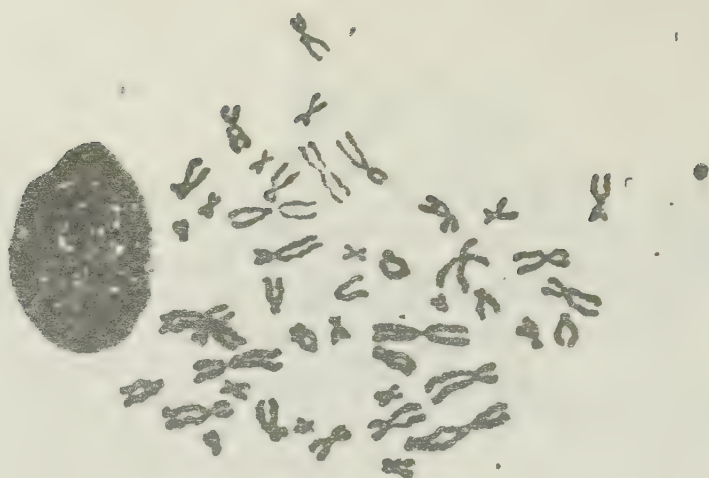


Abb. 1

T 764 (Entdiff. protoplasmatisches Astrozytom)

Stammlinie mit 78 Chromosomen.

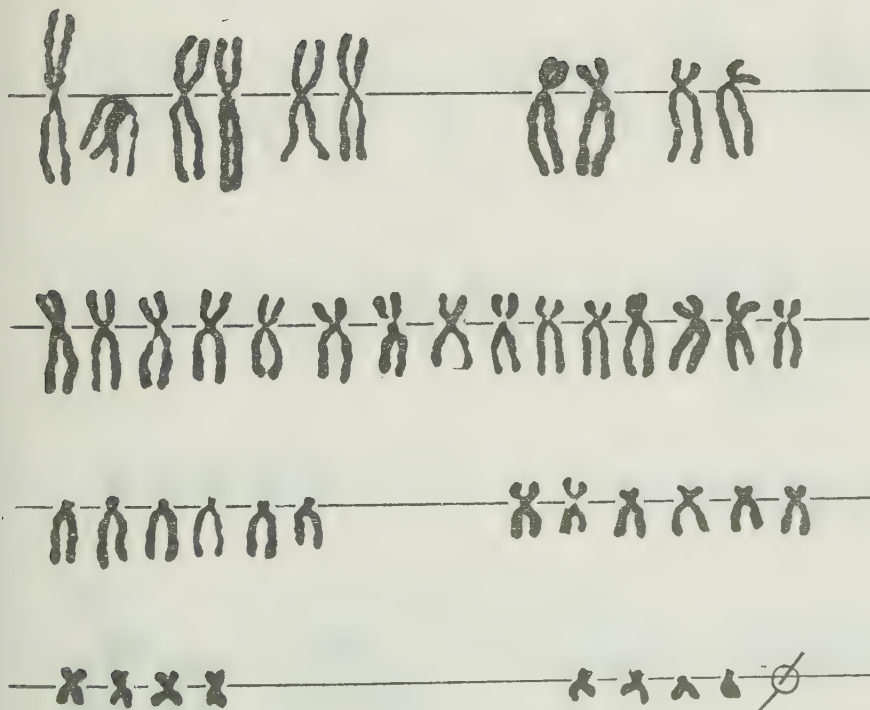
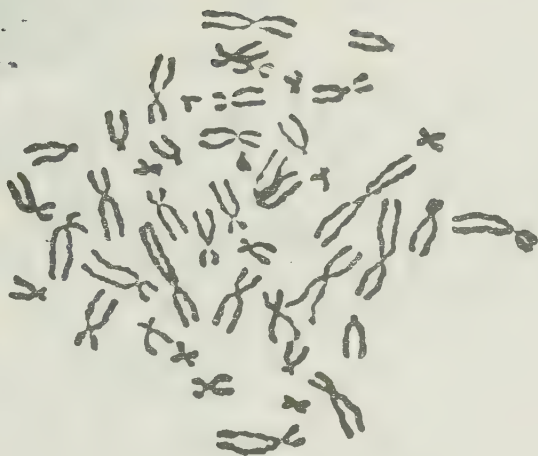
Hier eine Mitose der Nebenlinie mit 39 Chromosomen, die eine innere Asynchronie, d.h. ungleichmäßige Spiralisation der Chromosomen zeigt. Genaue Karyotypierung deshalb nicht möglich.



400

1753 (Entdiff. fusiformes Astrozytom-Rezidiv)

Karyogramm der Stammlinie 45, A-, B-, 2C-, F+, 2 mar+
(Markerchromosome mit Pfeil)



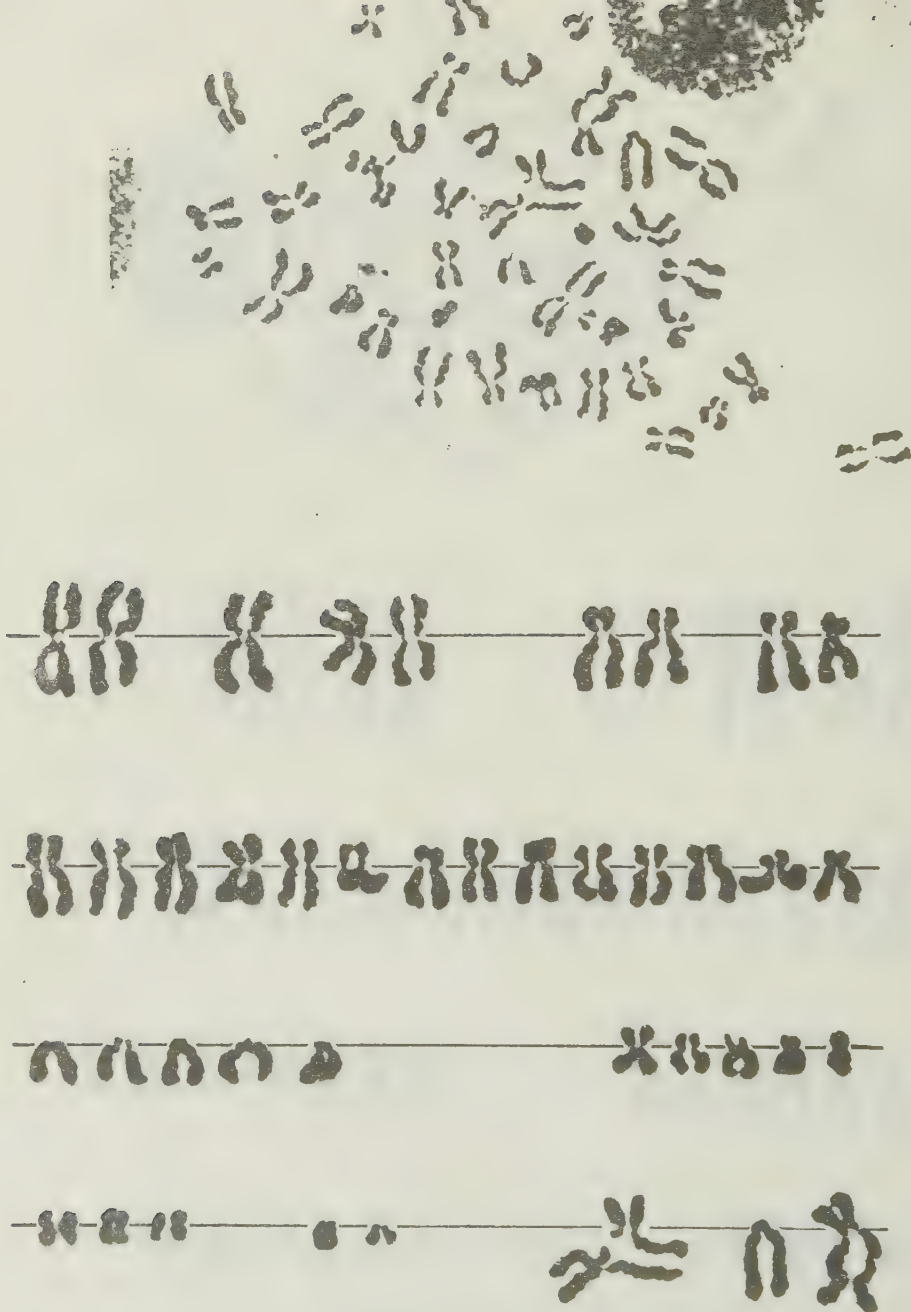


Abb. 4

T 672 (Fusiformes Glioblastom)

Stammlinie mit 42 Chromosomen.

2 konstante Marker (großes akrozentrisches und dizentrisches).

In dieser Mitose zusätzlich laterale Translokation als Einzelfall.

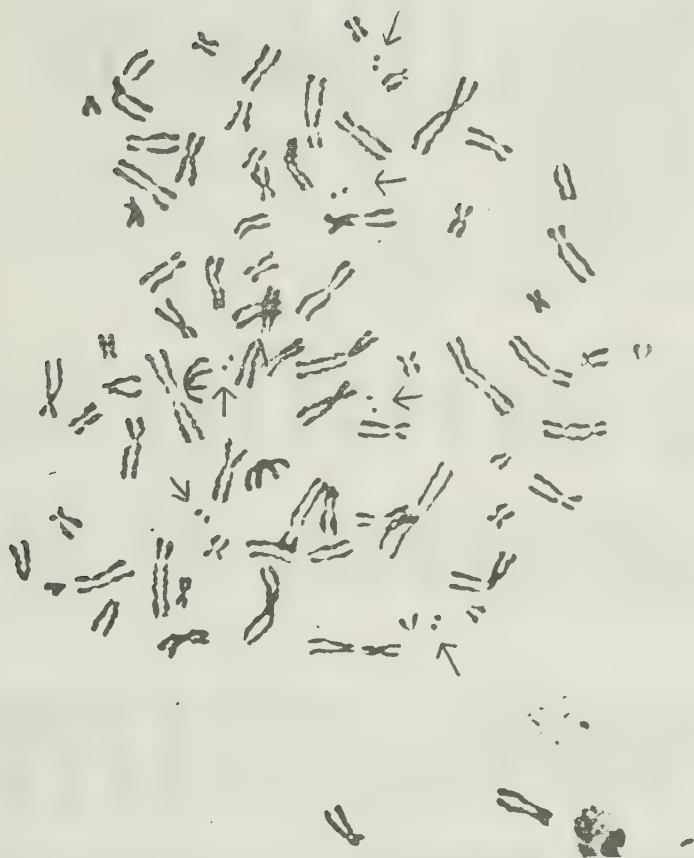
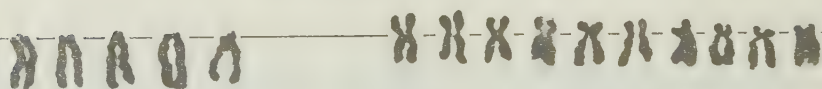
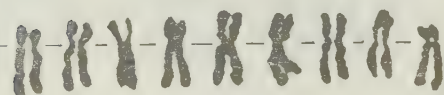
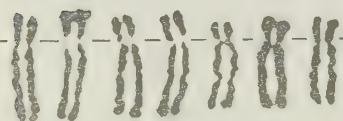
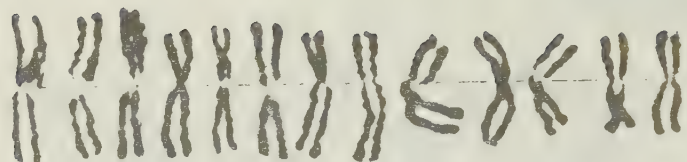


Abb. 5

T 763 (Multiformes Glioblastom)

Metaphasenplatte mit 74 Chromosomen und 6 double minutes(Pfeile)



: : : : :

Abb. 6

T 763 (Multiformes Glioblastom)

Karyogramm der Metaphase von Abb. 5
74 Chromosomen und 6 double minutes.

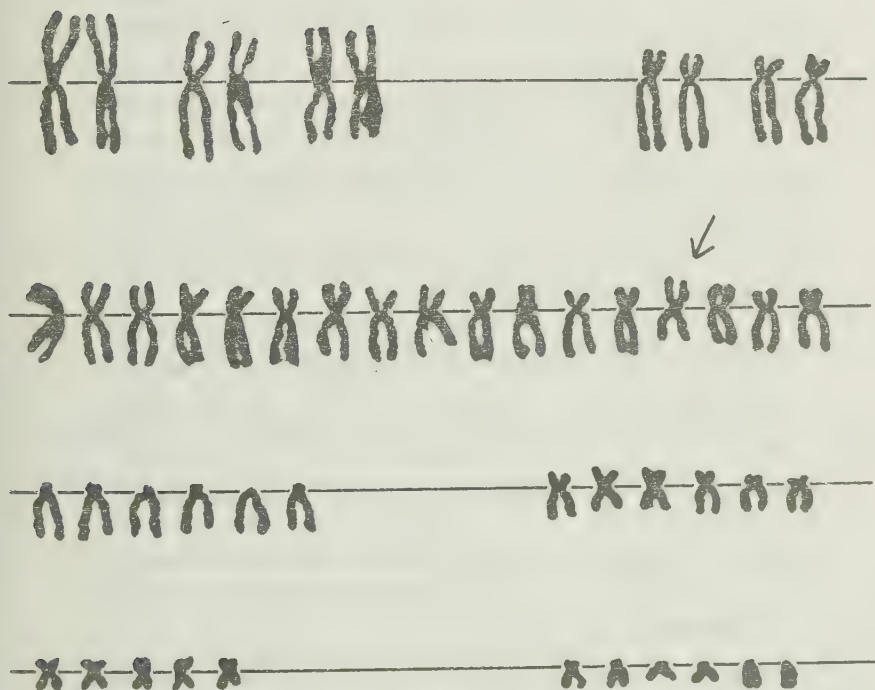
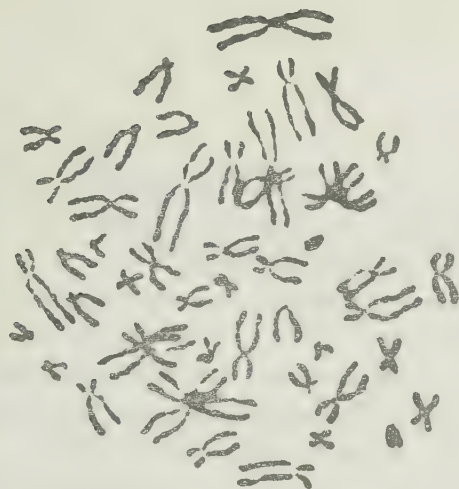


Abb. 7

T 751 (Entdiff. Oligodendrogliom)

Karyogramm der Stammlinie 50,C+,F+,G+,mar+
(Markerchromosome mit Pfeil)

LITERATURVERZEICHNIS

- BAILEY, P., CUSHING, H.: "A Classification of Tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis with a Correlated Study of the Prognosis". J.B. Lippincott, Philadelphia 1926.
- BICKNELL J.M.: "Chromosome Studies of Human Brain Tumors". Neurol. 17, 485-490 (1967).
- BOVERI, Th.: "Zur Entstehung maligner Tumoren". Fischer; Jena 1914.
- CONEN, P.E., ERKMANN, B.: "Chromosome Studies on Cultured Tumors of Nervous Tissue Origin". Acta Cytol. 11, 88-91 (1967).
- COSTERO, I., POMERAT, C.M.: "Standard Cellular Morphology of Gliomas in vitro as Compared with Explanted Normal Brain Cells". Excerpta Med. (Amst.) Sect. VIII, 821 (1955).
- COX, D.: "Chromosome Studies in 12 Solid Tumors from Children". Brit. J. Cancer 22, 402-414 (1968).
- ERKMANN, B., CONEN, P.E.: "Chromosome Constitution of 14 Human Malignant Tumors". Proc. Amer. Ass. Cancer Res. 5, 17 (1964).
- FORD, C.E., HAMERTON, J.L.: "The Chromosomes of Man". Nature 178, 1020-1023 (1956).
- GEY, G.O.: "An Improved Technique for Massive Tissue Culture". Amer. J. Cancer 27, 45-68 (1936).
- GULOTTA, F.: "Zur in vitro-Diagnostik gliös-mesenchymaler Mischgeschwülste". Deut. Zeitschr. Nervenheilkunde 186, 323-328 (1964).
- v. HANSEMANN, D.: "Über asymmetrische Zellteilung in Epithelkrebsen und deren biologische Bedeutung". Virchows Arch. 119, 299-326 (1890).
- HANSTEEN, I.L.: "Chromosome Studies in Glial Tumors". Europ. J. Cancer 3, 183-191 (1967).
- HLAVKA, V., SCHUBERT, P. and KREUTZBERG G.W.: "Enzyme Histochemistry and Tissue Culture of Oligodendrogliomas". VI^e Congrès Internat. de Neuropathol., Paris 1970.
- ISHIHARA, T., KIKUCHI, Y., SANDBERG A.A.: "Chromosomes of twenty Cancer Effusions. Correlation of Karyotypic, Clinical and pathological Aspects". J. Nat. Cancer Inst. 30, 1303-1361 (1963).

- KERNOHAN, J., MABON, R., SVIEN, H.J., ADSON, A.: "A simplified Classification of the Gliomas". Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 24, 71-75 (1949).
- KERSTING, G.: "Die Gewebezüchtung menschlicher Hirngeschwülste". Springer-Verlag (1961) Berlin-Göttingen-Heidelberg. -
- "Tissue Culture and the Classification of Brain Tumors". Rep. Internat. Symp. on Classification of Brain Tumors, Köln 1964; Acta Neurochir. Suppl. X (1964).
- KISELEVA, N.S.: "G-Group and Cellular Growth". Lancet I, 616-617 (1964).
- KOTLER, S., LUBS, H.A.: "Comparison of direct and Short-Term Tissue Culture Technics in Determining Solid Tumor Karyotypes". Cancer Res. 27, 1861-1866 (1967).
- LEVAN, A.: "Non random Representation of Chromosome Types in Human Tumor Stemlines". Hereditas 55, 28-38 (1966).
- LEVAN, A., MANOLOV, G., CLIFFORD, P.: "Chromosomes of a Human Neuroblastoma. A new Case with Accessory Minute Chromosomes". J. Nat. Cancer Inst. 41, 1377-1387 (1968).
- LUBS, H.A., SALMON, J.H., FLANIGAN, S.: "Studies of a Glial Tumor with Multiple Minute Chromosomes". Cancer 19, 591-599 (1966). -
- "The Chromosome Complement of Human Solid Tumors. II. Karyotypes of Glial Tumors". J. Neurosurg. 22, 160-168 (1965).
- MAKINO, S., SASAKI, M.S., TONOMURA, A.: "Cytological Studies of Tumors. XL. Chromosome Studies in fifty-two Human Tumors". J. Nat. Cancer Inst. 32, 742-777 (1964).
- MARK, J.: "Chromosomal Characteristics of Neurogenic Tumors in Children". Acta Cytol. 14, 510-518 (1970).
- "The Chromosomal Aberration of Double-Minutes in three Gliomas". Acta Neuropath. 16, 194-204 (1970).
 - "Chromosomal Characteristics of Neurogenic Tumors in Adults". Hereditas 63, 61-100 (1971).
 - "The Chromosomes in two Oligodendrogliomas and three Ependymomas in Adults". Hereditas 69, 145-149 (1971).
- NOWELL, P.C., HUNGERFORD, D.A.: "A Minute Chromosome in Human Chronic Myeloid Leukemia". Science 132, 1497 (1960).

- ROTHFELS, K.H., SIMINOVITCH, L.: "An Air Drying Technique for Flattening Chromosomes in Mammalian Cells Grown in vitro". Stain Technol. 33, 73-77 (1958).
- RUBINSTEIN, L., RUSSELL D.: "Pathology of Tumours of the Nervous System". Arnold, 1971, London.
- SINGER, H., ZANG, K.D.: "Cytologische und Cytogenetische Untersuchungen an Hirntumoren. I. Die Chromosomenpathologie des menschlichen Meningeoms". Humangenetik 9, 172-184 (1970).
- SPRIGGS, A.I., BODDINGTON, M.M., CLARKE, C.M.: "Chromosomes of Human Cancer Cells". Brit. Med. J. 1962
- STEENIS, H. van: "Chromosomes and Cancer". Nature 209, 819-821 (1966).
- TJIO, J.H., LEVAN, A.: "The Chromosome number of Man". Hereditas 42, 1-6 (1956).
- WILSON, B.C., KAUFMANN, L., BARKER, M.: "Chromosome Analysis of Glioblastoma Multiforme". Neurology 20, 821-828 (1970).
- WINGE: "Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren. II. Teercarzinom bei Mäusen". Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 10, 683-785 (1930).
- ZANG K.D., SINGER H.: "Chromosomal Constitution of Meningiomas". Nature 216, 84-85 (1967).
- ZANG, K.D., ZANKL, H.: "Chromosome Size and Hypodiploidy". Nature 228, 778-779 (1970).
- ZOLCH, K.J.: "Die Hirngeschwülste". Leipzig, Barth-Verlag 1951. -
- "Biologie und Pathologie der Hirngeschwülste". Handbuch der Neurochirurgie, Bd. III, Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer-Verlag 1956.

Danksagung

Herrn Professor Peters bin ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut zu Dank verpflichtet. Herrn Priv. Doz. Dr. Zang danke ich für die Themenstellung, die großzügige Unterstützung und das stetige Interesse bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Gewährung eines Doktorandenstipendiums, sowie die materielle Unterstützung dieses Untersuchungsprogramms.

Das Biopsiematerial und die klinischen Angaben wurden freundlicherweise von Herrn Professor Dr. Kessel und Chefarzt Dr. Weidenbach (Klinikum Rechts der Isar der Technischen Hochschule München) zur Verfügung gestellt.

Für labortechnische Unterstützung danke ich Frau Winkler, Fräulein Büscher und Herrn Kofler.

Das Manuskript schrieb Fräulein Behrisch.

Lebenslauf

Am 27. Oktober 1944 wurde ich in Brackwede/Westfalen als einer von zwei Zwillingsöhnen des Historikers Dr. Michael Schwartz und seiner Ehefrau Gerda Schwartz, geborene Luyken, geboren. Während der Jahre 1952 bis 1955 besuchte ich die Volksschule meines Geburtsortes. Im September 1956 trat ich in das Neusprachliche Gymnasium in Icking bei München ein; dort legte ich im Juli 1965 mein Abitur ab.

Im Oktober 1965 begann ich das Medizinstudium an der Universität München. Das medizinische Staatsexamen bestand ich im Dezember 1971.

Die vorliegende Arbeit ist das Ergebnis einer
unabhängigen Untersuchung, die im Rahmen
des Studienganges durchgeführt wurde. Die
Ergebnisse sind in dieser Form dargestellt
und können von anderen Autoren nicht
übernommen werden. Die Verantwortung für
den Inhalt dieser Arbeit liegt ausschließlich
bei dem Verfasser.

